

УДК 636.09:615:638.12

ЩЕРБАНЬ Е.П., к.б.н., ст. наук. сп. shcherban1943@ukr.net,

ДОВБИШ О.Б., наук. сп. o-dovbysh@ukr.net,

КОНОПОЛЬСЬКИЙ О.П., ст. наук. сп. konop@ukr.net

Українська лабораторія якості і продукції АПК, НУБіП України, м. Київ

### ОЦІНКА ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ БІОПРЕПАРАТУ АКТАРОФІТ НА МЕДОНОСНИХ БДЖІЛ *APIS MELLIFERA L.*

Вплив біопрепарату Актарофіт, КЕ (діюча речовина Аверсектин С, 2 г/дм<sup>3</sup>) вивчався в тестах на оральну токсичність для медоносних бджіл в лабораторних дослідах. Тестування проводилося з номінальним рівнем доз 2.0, 1.0, 0.1, 0.01 і 0.001 мкг д.р./бджолу та контролю. Біопрепарат в тестах на оральну токсичність показав негативну дію після споживання заданого корму бджолами в діапазоні концентрацій 2.0–0.01 мкг д.р./бджолу, що відбилось на їх поведінці та смертності. Симптоми поведінки бджіл характеризували біопрепарат як нейротоксичний. LD<sub>50</sub> біопрепарату в тестах на оральну токсичність для бджіл складала через 24 год 0.025 (0.015÷0.041), через 48 год – 0.007 (0.005÷0.0097) та через 72 год – 0.0048 (0.0037÷0.0062) мкг д.р./бджолу.

**Ключові слова:** біопрепарат, бджола, оральна токсичність, LD<sub>50</sub>, смертність.

**Вступ.** Засоби захисту рослин щорічно поповнюються новими хімічними препаратами для боротьби зі шкідниками рослин та тварин. Всі вони в тій чи іншій мірі є небезпечними для корисних комах, зокрема медоносних бджіл. В останні роки зростає застосування препаратів біологічного походження фунгіцидної, інсектицидно-акарицидної та нематоцидної дії. Біопрепарати з фунгіцидною активністю в основному класифікуються як безпечні для корисних комах, за виключенням окремих речовин. Біопрепарати інсектицидно-акарицидної дії, до складу яких входять авермектини, показали високу перспективність для використання їх у сільському господарстві та у ветеринарній практиці. Біопрепарати на основі авермектинів (аверсектинів) мають цілий ряд позитивних властивостей, що дозволяє значно знизити пестицидне навантаження на агроценози [1].

Однак, ці біопрепарати мають і негативну сторону. При застосуванні їх на посівах сільськогосподарських, плодово-ягідних, овочевих та декоративних рослин від шкідників з максимальною нормою витрати 6-12 л/га вони проявляють негативний вплив на бджіл. Проявляють також високу токсичність для тест-об'єктів водної біоти, зокрема, для риб, зоопланктонних та бентосних організмів.

**Мета роботи.** Вивчення впливу препарату інсектицидно-акарицидної дії біологічного походження Актарофіт, КЕ (д.р.: Аверсектин С, 2 г/дм<sup>3</sup>) на медоносних бджіл (*Apis mellifera L.*).

Визначення гострої оральної токсичності біопрепарату для бджіл.

**Матеріали і методи досліджень.** Вивчення впливу біопрепарату в тестах на оральну токсичність для медоносних бджіл проводилися в лабораторних умовах методом групової обробки.

Досліди проводилися згідно керівним принципам «ОЕСД №213 по випробуванням хімічних речовин. Бджоли медоносні: тест на гостру оральну токсичність» [2]. В дослідях використовувалися бджоли *Apis mellifera L.* (Hymenoptera, Apoidea) карпатської породи, одержані від здорової сім'ї експериментальної пасіки Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК.

**Тест на оральну токсичність.** Щоб отримати вихідний розчин для тестування на гостру оральну токсичність брали визначену кількість біопрепарату Актарофіт, КЕ і розводили водним розчином 50 % цукрового сиропу. Кінцева доза готувалася шляхом змішування певної

кількості вихідного розчину з певною кількістю 50 %-го водного розчину цукрового сиропу. До початку годівлі бджоли голодували впродовж 2 годин. Після голодування групам бджіл вносили по 200 мкл 50 % розчину цукрового сиропу з досліджуваними концентраціями біопрепарату. Бджоли споживали тестований розчин з однієї годівнички і, таким чином, отримували однакові дози корму. Кількість спожитого корму бджолами визначалася зважуванням годівничок до і після годування через 4 години. На місце годівничок із тестованим кормом ставилися в садочки нові з 50 % розчином цукрового сиропу без біопрепарату. Бджоли в контрольних садках споживали 50 % розчин цукрового сиропу в чистому вигляді впродовж всього періоду спостереження.

Температура в дослідах знаходилася в межах 26.6–27.3°C, а відносна вологість коливалася від 70.5 до 73.2 %. Бджоли утримувалися в темряві. На кожну дозу препарату та контроль ставилося по 3 повторності, по 10 бджіл в кожній. Смертність бджіл в садочках відмічали через 4, 24, 48 і 72 години. У кожній концентрації велася спостереження за поведінкою бджіл.

Перед проведенням досліду з препаратом Актарофіт, КЕ обов'язково проводили дослід з еталонним препаратом, д.р. диметоат, 400 г/дм<sup>3</sup>.

Статистична обробка виконана з використанням методу *Litchfield and Wilcoxon* [3].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Тестування на оральну токсичність для бджіл проводилися з номінальним рівнем доз 2.0; 1.0; 0.1; 0.01 і 0.001 мкг д.р./бджолу. Паралельно проводився контрольний тест на оральну токсичність, де бджоли споживали 50 % розчин цукрового сиропу в чистому вигляді впродовж всього періоду спостереження. Результати дослідження приведені в таблиці.

Як видно з таблиці, в тестах на оральну токсичність номінальні концентрації біопрепарату Актарофіт, КЕ 2.0, 1.0, 0.1, 0.01 та 0.001 мкг д.р./бджолу відповідали фактичному споживанню корму бджолами 1.05, 0.66, 0.05, 0.007 та 0.00099 мкг д.р./бджолу відповідно.

При такій кількості спожитого корму при найвищих заданих концентраціях біопрепарату 2.0 і 1.0 мкг д.р./бджолу стан бджіл в садках був важким. Загибель бджіл через 4 год, при достовірності  $p=0.05$ , складала 66.7 і 56.7 % відповідно, решта – лежали на дні садків і конвульсивно корчилися. Через 24 год при цих концентраціях спостерігалася 100 % загибель бджіл. Слід відзначити, що споживання корму комахами при заданій концентрації 2.0 мкг д.р./бджолу становило 52.5 %, а при концентрації 1.0 мкг д.р./бджолу – 66.0 % від заданого.

Таблиця

**Середня смертність бджіл і загальне споживання корму в тестах на оральну токсичність під дією біопрепарату Актарофіт, КЕ та еталонного препарату**

Концентрація, мкг д.р./бджолу	Споживання корму, мкг д.р./бджолу	Смертність (%)			
		4 год	24 год	48 год	72 год
2.0	1.05	66.7	100	100	100
1.0	0.66	56.7	100	100	100
0.1	0.05	20.0	76.7	93.3	100
0.01	0.007	3.3	40.0	50.0	63.3
0.001	0.00099	0.0	6.7	6.7	6.7
Контроль (50% розчин цукрового сиропу)	238.2 мг/група бджіл	0.0	0.0	0.0	0.0
Еталонний препарат Диметоат, 400 г/дм <sup>3</sup>					
0.09	0.12	3.3	10.0	10.0	–
0.11	0.13	30.0	33.3	40.0	–
0.15	0.18	36.7	70.0	76.7	–
0.21	0.23	56.7	96.7	100.0	–

Статистично значимий вплив тестованого препарату спостерігався і при номінально заданій концентрації 0.1 мкг д.р./бджолу. Після спожитого корму спостерігалася висока загибель бджіл. Бджолами було спожито лише 50 % корму від заданого. Як видно з таблиці, через 4 год загибель бджіл була несуттєвою (20 %), стільки ж відсотків бджіл лежали на дні садків в конвульсіях. З подовженням експозиції загибель бджіл зростала і складала 76.7 % через 24 год, а 100 % загибель була відмічена через 72 години. Достовірність результатів висока. Отже, номінальна задана концентрація біопрепарату 0.1 мкг д.р./бджолу показала високу токсичність для бджіл, що призводило їх до загибелі.

При номінальній заданій концентрації 0.01 мкг д.р./бджолу було спожито всього 70 % корму бджолами від заданого. Загибель бджіл після спожитого корму через 4 год складала 3.3 %, що несуттєво, 6.7 % комах постійно спотикалися та падали, а біля 25 % бджіл були гіперактивними. Як бачимо, досліджуваний біопрепарат навіть при такій низькій концентрації впливав на нервову систему бджіл. З подовженням експозиції загибель бджіл зростала і через 72 год становила 63.3 %. Всі показники загибелі бджіл статистично значимі,  $p=0.05$ .

Не спостерігалася статистично значимого впливу тестованого біопрепарату на виживання бджіл лише при номінальній заданій концентрації 0.001 мкг д.р./бджолу. Бджолами був повністю спожитий заданий корм. Загибель бджіл після спожитого корму через 24 год була несуттєвою (6.7 %) і залишалася незмінною до кінця дослідження. Відхилень у поведінці бджіл не спостерігалася.

Контрольна група бджіл, в тестах на оральну токсичність, повністю споживала заданий корм – 238.2 мг/групу бджіл. Смертності комах не спостерігалася. Не відмічено відхилень і у їх поведінці.

Отже, з даних таблиці, смертність і поведінка бджіл під дією біопрепарату змінювалися після спожитого ними корму і знаходилися в прямій залежності від номінальних заданих концентрацій корму бджолам. Симптоми поведінки бджіл характеризують досліджуваний біопрепарат як нейротоксичний. Піддослідні бджоли певний час конвульсивно корчилися з поступовим уповільненням рухів і врешті-решт гинули.

Розрахована медіанна летальна доза ( $LD_{50}$ ) біопрепарату в тестах на оральну токсичність для бджіл (мкг д.р./бджолу) складала:

24 год	48 год	72 год
0.025 (0.015÷0.041)	0.007 (0.005÷0.0097)	0.0048 (0.0037÷0.0062)

Таким чином, величина  $LD_{50}$  біопрепарату для бджіл в тестах на гостру оральну токсичність з подовженням експозиції зменшувалася, тобто токсичність для бджіл зростала.

$LD_{50}$  еталонного препарату в тестах на оральну токсичність через 24 год знаходилася в межах від 0.10 до 0.35 мкг д.р./бджолу і становила через 24–48 годин 0.15 (0.134÷0.168) – 0.14 (0.125÷0.157) мкг д.р./бджолу відповідно. Смертності бджіл в контрольному варіанті дослідження не спостерігалася. Отже, валідність тесту дійсна.

Таким чином, по класу токсичності біопрепарат Актарофіт, КЕ можна характеризувати як високотоксичний для бджіл, 1 клас небезпечності [4].

При умові застосування біопрепарату на полях при максимальній нормі витрати 6–12 л/га коефіцієнт ризику оральної дії (КРо) для бджіл буде складати 2500–5000 відповідно.

Отримані коефіцієнти ризику значно перевищують нормативний коефіцієнт 50, що свідчить про високу ступінь токсичності біопрепарату Актарофіт, КЕ для медоносних бджіл.

Отже, коефіцієнт ризику оральної дії препарату дозволяє віднести біопрепарат до високонебезпечних для бджіл.

#### **Висновки та перспективи подальших досліджень:**

1. Біопрепарат Актарофіт, КЕ (д.р. Аверсектин С, 2 г/дм<sup>3</sup>) в тестах на оральну токсичність на бджіл показав високу токсичність при номінальних заданих концентраціях 2.0, 1.0, 0.1 та 0.01 мкг д.р./бджолу.

2. Смертність бджіл та їх поведінка під дією біопрепарату знаходилися в прямій залежності від номінальних заданих концентрацій корму бджолам. Біопрепарат має властивості нейротоксичної дії для бджіл.

3. Медіанна летальна доза ( $LD_{50}$ ) біопрепарату для бджіл в тестах на оральну токсичність через 24 год складала 0.025 (0.015÷0.041), через 48 год – 0.007 (0.005÷0.0097), через 72 год – 0.0048 (0.0037÷0.0062) мкг д.р./бджолу.

4. Коефіцієнт ризику оральної дії (КРо) дозволяє віднести досліджуваний біопрепарат до I класу небезпечності для медоносних бджіл – високонебезпечний.

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Ісаєнко В.М. Екологічна роль авермектинів у формуванні збалансованих агроєкосистем / В.М. Ісаєнко, В.П. Патики // Сільськогосподарська мікробіологія. Міжвід. темат. наук. зб. — Чернівці. 2007. — Вип.5. — С.15-30.
2. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. № 213, 21<sup>st</sup> September, 1998. — 8p.
3. Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. Jour. Pharmacol. and Exper. Ther., 96, — 1949. — P. 99-113.
4. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Seventh revised edition. Copyright © United Nations, 2017. All rights reserved. — 527 p.

#### **ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БИОПРЕПАРАТА АКТАРОФИТ НА МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ APIS MELLIFERA L. / Щербань Э.П., Довбыш Е.Б., Конопольский А.П.**

*Воздействие биопрепарата Актарофит, КЭ (действующее вещество Аверсектин С, 2 г/л) исследовали в тестах на острую оральную токсичность для пчел в лабораторных опытах. Тестирование проводилось с номинальным уровнем доз 2.0, 1.0, 0.1, 0.01 и 0.001 мкг д.в./пчелу и контроле. Биопрепарат в тестах на острую оральную токсичность показал негативное воздействие после потребления заданного корма пчелами в диапазоне концентраций 2.0-0.01 мкг д.в./пчелу, что отразилось на их поведении и смертности. Симптомы поведения пчел характеризовали биопрепарат как нейротоксичный.  $LD_{50}$  биопрепарата в тестах на оральную токсичность для пчел через 24 час равнялась 0.025(0.015÷0.041), через 48 час – 0.007(0.005÷0.0097) и через 72 час – 0.0048(0.0037÷0.0062) мкг д.в./пчелу.*

**Ключевые слова:** биопрепарат, пчела, оральная токсичность,  $LD_{50}$ , смертность.

#### **STUDY OF BIOLOGIC AKTAROFIET TOXIC EFFECT ON HONEYBEES APIS MELLIFERA L. / Shcherban E. P., Dovbysh E. B., Konopolski A. P.**

**Introduction.** The biologic preparations of insecticide-accuracies action which include aversectines show high perspectives for using them in agriculture and veterinary practice. A number of their positive

properties allow to reduce the negative impacts of it on agrocoenosis. But on the other hand the biologic preparations effect on honeybees negatively.

**The goal of the work.** The objective of this study was to determine possible effects of the test item Aktarofit, EC, of biological origin (a.i. Aversectines C, 2g/L) on honeybees (*Apis mellifera* L.) from oral exposure.

**Materials and methods.** The oral toxicity test was conducted in the laboratory over 4-h, 24-h, 48-h and 72-h test periods following the OECD N213 (1998). The honeybee *Apis mellifera* L. (Carpathians) was used as test organism. The test was carried 3 replicate groups with young adult worker bees from healthy colony of our laboratory. The bees were kept under test conditions (the temperature – 26,5-27,3°C; the relative humidity – 70,5-73,2 %) in darkness. Nominative test doses in the oral toxicity test were 2.0, 1.0, 0.1, 0.01, 0.001 µg a.i./bee. At each dose and treatment 3 replicate groups (of 10 bees each) were tested. The number of dead bees in the individual test cages was recorded after 4, 24, 48 and 72 hours in the oral toxicity test. The LD<sub>50</sub> values with 95% confidence limits of the test were calculated using Litchfield and Wilcoxon's method.

**Results of research and discussion.** In the oral toxicity tests the predetermined nominal concentrates of test item of 2.0, 1.0, 0.1, 0.01, 0.001 µg a.i./bee corresponded the actual concentrations in feed of 1.05, 0.66, 0.05, 0.007, 0.00099 µg a.i./bee. At the nominal dose level of 2.0–0.01 µg a.i./bee a mortality of 40–100 % was observed at the end of the 24 hour test period, through 72 hour under dose level of 0,01 µg a.i./bee the observed mortality was 63,3 % and under the higher dose level the mortality was 100%. A statistically significant effect of the test item at 0.001 µg a.i./bee was not observed. The bees completely consumed the proposed feed, the mortality rate was 6.7 %. Deviations in the behavior of bees were not observed. Thus, after the spoilage of the feed, the mortality of bees increased and their behavior changed. A direct dependence of these indices on the nominal feed concentrations for bees was observed. The oral LD<sub>50</sub> value for test item through 72 h was 0.0048 (0.0037÷0.0062) µg a.i./bee respectively. The test item may be considered as the highly-dangerous for the honeybees, the first class of danger.

**Conclusions and prospects for further research.** The biologic preparation Aktarofiet concerns to the first class of danger to honeybees, highly-dangerous. It manifests the neurotoxic impact for honeybees. The mortality and behavior of honeybees are directly depend upon the concentration of test item in the consumed feed for the bees.

The oral LD<sub>50</sub> value for Aktarofiet through 24 h, 48 h and 72 h was 0.025 (0.015÷0.041), 0.007 (0.005÷0.0097) and 0.0048 (0.0037÷0.0062) µg a.i./bee respectively.

**Keywords:** biologic preparation, bee, oral toxicity, LD<sub>50</sub>, mortality

## REFERENCES

1. Isaienko, V.M., Patyca, V.P. Ekologichna rol' avermektyniv u formuvanni zbalansovanykh ahroekosystem (2007) [Ecological effect of avermectins in the formation of steady agroecosystems] Sil's'kohospodars'ka mikrobiologhiia. Mizhvid. temat. nauk. zb., [Agricultural microbiology. Interdepartmental thematic scientific collection]. Chernihiv, Producing 5. P 15-30 [in Ukrainian].
2. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. № 213, 21<sup>st</sup> September, 1998. – 8p.
3. Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. Jour. Pharmacol. and Exper. Ther., 96, – 1949. – P. 99-113.
4. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Seventh revised edition. Copyright © United Nations, 2017. All rights reserved. – 527 p.