

ВЕТЕРИНАРІЯ, ТЕХНОЛОГІЇ ТВАРИНИЦТВА ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

VETERINARY SCIENCE, TECHNOLOGIES OF ANIMAL HUSBANDRY AND NATURE MANAGEMENT

ISSN 2617-8346 (Print)
ISSN 2663-5542 (Online)

doi: 10.31890/vttp.2019.04.13
<http://ojs.hdzva.edu.ua/>

UDC 636.5.033:615.917'2/9

Teratogenic and embryotoxic influence of carbendazim which is had on chickens' embryos

I. O. Zhukova, O. S. Kochevenko, O. M. Bobrytska, I. O. Kostiuk, S. L. Antipin

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Ukraine

Article info

Received 08.10.2019

Received in revised form
01.11.2019

Accepted
15.11.2019

Kharkiv State
Zooveterinary Academy,
Academichna Str. 1, Mala
Danylivka, Dergachi district,
Kharkiv region, Ukraine,
62341

E-mail:
phiziolog.hdzva@ukr.net

Zhukova, I. O., Kochevenko, O. S., Bobrytska, O. M., Kostiuk, I. O., & Antipin, S. L. (2019). Teratogenic and embryotoxic influence of carbendazim which is had on chickens' embryos. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 4, 64-68, doi: 10.31890/vttp.2019.04.13.

Introduction of chemical substance technologies into agriculture among which there are 300 pesticides is a guarantee of receiving a completed agricultural product for the protection of animals and plants from pests, moulting bands, ectoparasites and diseases. Despite the positive results of pesticides usage there is a negative side which lies in danger posed to animals and people health.

To discover teratogenic and embryotoxic effect fungicide and seed treatment Derozal which is produced by Bayer (Germany) has been used, an active ingredient of which is carbendazim (BMK) (500g/l). It has been injected into the allantois cavity of 9-11 days old chickens' embryos of K-8 line with a mass 59-61 gr (n=100) in dose of 0.05 LD₅₀ and 0.01 LD₅₀ (500 and 100 mg/kg of an embryo mass relatively) (LD₅₀ for chickens is 9089.0 mg/kg). The doses of pesticide have been calculated due to the existence of active substance (50%). The embryos of a controlled group have been injected with isotonic liquid of sodium chloride in quantity of 0.5 cm³.

Test as well as controlled chickens' embryos have been observed daily through the ovoscope up to the moment of chickens' hatch with the aim to distinguish the coloration and liveliness, the size of air chamber, the quality of shell, the state of an embryo, its development and the blood system of allantois. Dead chickens' embryos have been removed and stored for further experiments under the temperature + 4°C.

During the analyses of the influence of different doses of carbendazim it has been determined that the dose of 0.05 LD₅₀ of the substance has caused the death of 14 (46.7 %) embryos, and dose of 0.01 LD₅₀ – the death of 9 (30.0 %) chickens' embryos. The control has shown that isotonic liquid of NaCl has not caused the mass death of embryos (5 %). Teratogenic influence of carbendazim has been determined by the existence of undeveloped or complete absence of eyes, beaks, one or both limbs, non-fused abdominal cavity and fall-out of internal organs as well as combination of several deformities. The percentage of healthy embryos in the 1st and 2^d groups has been at the level of 56.7-80.0 % relatively.

Thus, the results of the carried out experiment represent that carbendazim in mentioned doses has highly marked embryotoxic influence on chickens' embryos and also has teratogenic effect.

Keywords: chickens' embryos (CE), carbendazim (BMK), embryotoxic, teratogenic.

Тератогенное и эмбриотоксическое воздействие карбендазима на эмбрионы кур

И. А. Жукова, Е. С. Кочевенко, О. Н. Бобрицкая, И. А. Костюк, С. Л. Антипин

Харьковская государственная зооветеринарная академия, Харьков, Украина

Внедрение в аграрные технологии химических веществ, к которым относятся около 300 пестицидов, является гарантией получения полноценной сельскохозяйственной продукции, защиты животных и растений от вредителей, сорняков, эктопаразитов и болезней. Вместе с положительными результатами применения пестицидов, есть и негативная сторона, которая заключается в опасности их для здоровья людей и животных.

В опыте по выявлению тератогенного и эмбриотоксического эффекта применяли фунгицид и протравитель семян Дерозал, производства фирмы Байер (Германия), активным ингредиентом которого является карбендазим (БМК) (500 г/л). Его вводили в алантоисную полость 9-11-дневным куриным эмбрионам линии К-8,

масою 59-61 г ($n = 100$) в дозах 0,05 і 0,01 ЛД₅₀ (500 і 100 мг/кг маси ембріона відповідно) (ЛД₅₀ карбендазіма для кур складає 9089,0 мг / кг). Дози пестицида розраховували, виходячи з наявності в ньому діючої речовини (50%). Контрольним ембріонам вводили ізотонічний розчин хлориду натрію в кількості 0,5 см³.

Іспитуємі та контрольні курині ембріони прослідкували на овоскопі щодня до вилуплення цыплят з метою визначення окраски та подвижності, розміра повітряної камери, якості скорлупи, стану та розвитку зародка, кровоносної системи алантоїса. Погиблі курині ембріони видаляли та зберігали для подальших досліджень при +4°C.

При вивченні впливу різних доз карбендазіма встановлено, що доза 0,05 ЛД₅₀ препарату викликала смерть 14 (46,7%) ембріонів, а доза 0,01 ЛД₅₀ – смерть 9 (30,0%). Контроль показав, що ізотонічний розчин NaCl не викликав масової смерті ембріонів (5%). Тератогенний вплив карбендазіма виявлявся наявністю недорозвинутих або повністю відсутніх очей, клюва, однієї або обох кінцівок, незарощення шлункової стінки та випадіння внутрішніх органів, а також комбінації декількох уродів. Відсоток неповреджених ембріонів в I та II групі був на рівні 56,7-80,0% відповідно.

Таким чином, результатами проведеного дослідження встановлено, що карбендазім в зазначених дозах викликає ембріотоксичний вплив на курині ембріони та має тератогенний ефект.

Ключові слова: курині ембріони (КЕ), ембріотоксичність, тератогенність, карбендазім (БМК).

Тератогенний та ембріотоксичний вплив карбендазіму на ембріони курей

І. О. Жукова, О. С. Кочевенко, О. М. Бобрицька, І. О. Костюк, С. Л. Антіпін

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

Згідно з результатами проведеного дослідження, встановлено, що карбендазім проявляє тератогенний та ембріотоксичний вплив на курячі ембріони при введенні в алантоїсну порожнину в дозах 0,05 та 0,01 ЛД₅₀ (500 і 100 мг/кг маси ембріона відповідно). Це явище супроводжується загибеллю ембріонів та розвитком окремих та комбінованих потворностей.

Ключові слова: курячі ембріони (КЕ), ембріотоксичність, тератогенність, карбендазім (БМК).

Вступ

Актуальність теми. У програмі економічного розвитку України сільському господарству приділяється велика увага, зокрема широкому застосуванню хімічних засобів боротьби зі шкідниками сільськогосподарських культур. Впровадження в аграрні технології хімічних речовин, до яких належать майже 300 пестицидів, є гарантією отримання повноцінної сільськогосподарської продукції, захисту тварин і рослин від шкідників, бур'янів, ектопаразитів і хвороб тварин (Malinin, Khmel'nitskiy, & Kutsan, 2002).

Разом з позитивними результатами застосування пестицидів, є і негативний бік, який полягає в небезпеці їх для здоров'я людей і тварин. У зв'язку з цим, в даний час фос- і хлорорганічні сполуки не рекомендовані для застосування в сільському господарстві, хоча вони є достатньо ефективними засобами у боротьбі зі шкідниками. За даними державних лабораторій ветеринарної медицини, отруєння саме цими пестицидами зустрічаються найчастіше. Значно рідше реєструють отруєння похідними бензімідазолу і карбамінової кислоти. Особлива увага приділяється карбендазіму (БМК, бензімідазолметилкарбамат, бавистин, фунабен, колфуго, дерозал, олгін), оскільки він використовується самостійно та є метаболітом таких препаратів, як фундазол (беноміл) або входить до складу комбінованих препаратів (дезарал екстра, фулгор голд, імпакт К, фунабен, колфуго дуплет та ін. (Golyshin, 1993; Mel'nikov, & Belan, 2000; Porova, 2009).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Похідні карбамінової кислоти у порівнянні з хлорорганічними і фосфорорганічними сполуками менш стійкі в навколишньому середовищі. На поверхні ґрунту і рослин, під впливом сонячного світла, вони розпадаються на ряд сполук. У ґрунтах період напіврозпаду цих пестицидів складає 8 днів, а на плодівих і овочевих культурах – 3-4 дні. Проте, при

детальніших дослідженнях встановлено, що в кормових культурах, таких як кукурудза і картопля, беноміл виявляється протягом 30 діб. Залишкові кількості бензімідазолкарбаматів на оброблених рослинах і в ґрунті можуть зберігатися протягом вегетаційного періоду і навіть упродовж 1-2 років. При оральному надходженні, в незначних кількостях препарати всмоктуються вже в шлунку за допомогою дифузії, а основна частина – у тонкому відділі кишечника (Sedokur et al, 1986).

При дослідженні бензімідазолів зазначено, що основним органом, в якому лікарські речовини і пестициди, зокрема карбендазім, трансформуються, є печінка. Активація печінкових ензимів БМК демонструється підвищенням активності цитохрому Р-450 монооксигенази, зменшення рівня цитохромів Р-450 і b5 та активності анлінової гідроксамілази, сукцинатдегідрогенази сироватки крові і лейкоцитів, пероксидази, хлорацетатестерази ізоциклічної дегідрогенази, гама-транспептидази і вмісту ліпідів у нейтрофілах. Маркери гепатотоксичності не уражуються, отже БМК не токсичний для печінки свійської птиці, але при інтраперитонеальному введенні він викликає пригнічення активності монооксигенази. Якщо порівнювати гепато- і нефротоксичність хлорорганічних і карбаматних пестицидів, то перевага віддається першим (Galtier, 1991; Lisovskaya, Zhmin'ko, & Shulyak, 2018).

Впродовж багатьох років вивчається вплив бензімідазолів на процеси відтворення і розвиток різних пре- і неонатальних патологій. За даними багатьох дослідників, такі препарати як карбендазім, беноміл, альбендазол, тіабендазол мають яскраво виражені цитогенетичну, ембріотоксичну, тератогенну і гонадотоксичну дії, впливають на білковий і вуглеводний обмін, стан ендокринної системи, а також на показники гуморального імунітету. Крім того, є окремі повідомлення про канцерогенність і мутагенність цих речовин ([Barlas, Selmanoglu, Koçkaya, & Songür, 2002](#);

Aire, 2005; Lu et al., 2004; Adedara et al., 2013; Shepel'skaya, Ivanova, Sapozhnikova, & Grigorenko, 2013; Rama et al., 2014; Durand et al., 2016; Kolyanchuk, 2018; Lu, 2018).

Мета роботи – визначення тератогенного і ембріотоксичного впливу карбендазиму на курячі ембріони (КЕ) при одноразовому введенні його в алантоїсну порожнину в концентраціях 0,05 ЛД₅₀ та 0,01 ЛД₅₀ для курей.

Матеріал та методи досліджень

У досліді застосовували фунгіцид і протруйник насіння Дерозал, виробництва фірми Bayer (Німеччина), активним інгредієнтом якого є карбендазим (500 г/л).

З метою вивчення тератогенного впливу пестициду вводили у алантоїсну порожнину 9-11-денним курячим ембріонам в дозах 0,05 ЛД₅₀ та 0,01 ЛД₅₀ для курей (500 і 100 мг/кг маси ембріона відповідно) у формі водної суспензії, виходячи з того, що ЛД₅₀ для курей, за нашими попередніми дослідженнями, складає 9089,0 мг/кг (Kochevenko, Zhukova, 2014). Дози пестициду розраховували, виходячи з наявності в ньому діючої речовини (50 %), тобто подвоювали. Шкаралупу в

районі алантоїсної порожнини заздалегідь обробляли 5 % спиртовим розчином йоду, фламбували, проколювали за допомогою шприцу і в алантоїс вводили суспензію препарату в кількості 0,5 см³ на 1 ембріон. Курячі ембріони інкубували в термостаті при температурі +37°C і відносній вологості 60 %. Контрольним ембріонам вводили ізотонічний розчин хлориду натрію в кількості 0,5 см³. Облік результатів проводили щодня на овоскопі та оцінювали за кількістю загиблих курячих ембріонів, що мають морфологічні порушення у порівнянні з контролем після впливу на них 8,5 % розчину хлориду натрію.

Піддослідні і контрольні курячі ембріони переглядали на овоскопі щодня до вилуплення курчат з метою визначення забарвлення і рухливості, розміру повітряної камери, якості шкаралупи, стану і розвитку зародка, кровносною системи алантоїсу. Загиблі курячі ембріони видаляли і зберігали для подальших досліджень при + 4°C (Metodicheskiye ukazaniya, 1988).

Для проведення дослідів відбирали курячі ембріони масою 59-61 г, лінії К-8 (n=100). Ембріони були розподілені на 3 групи: одна контрольна і 2 – піддослідні. Схема проведення дослідів представлена в таблиці 1.

Таблиця 1

Схема дослідів на курячих ембріонах

Партія ембріонів (n=100)	Кількість ембріонів, штук	Препарат	Доза препарату
1 група	30	карбендазим	0,05 ЛД ₅₀ 500 мг/кг маси
2 група	30	карбендазим	0,01 ЛД ₅₀ 100 мг/кг маси
3 група (контроль)	40	8,5 % NaCl	0,5 см ³

Ембріотоксичний та тератогенний вплив Дерозалу у піддослідних і контрольній групах оцінювали за відсотковому співвідношенню загиблих курчат, тих що вилупилися, а також по життєздатності курчат, спроможності виходу їх з яйця, здібності до самостійного руху, орієнтуванню і прийому корма.

Для визначення тератогенного впливу пестициду загиблі курячі ембріони в процесі інкубації і через 21 добу піддавали розтину і ретельно обстежували для оцінки морфологічних порушень та

порівняння кількості потворностей у піддослідних і контрольній групах.

Результати та їх обговорення

При вивченні впливу різних доз карбендазиму встановлено, що доза 0,05 ЛД₅₀ препарату спричиняла загибель 14 (46,7 %) ембріонів, а доза препарату 0,05 ЛД₅₀ – загибель 9 (30,0 %) курячих ембріонів. Контроль показав, що ізотонічний розчин NaCl не викликав масової загибелі ембріонів (5 %) (рис. 1).

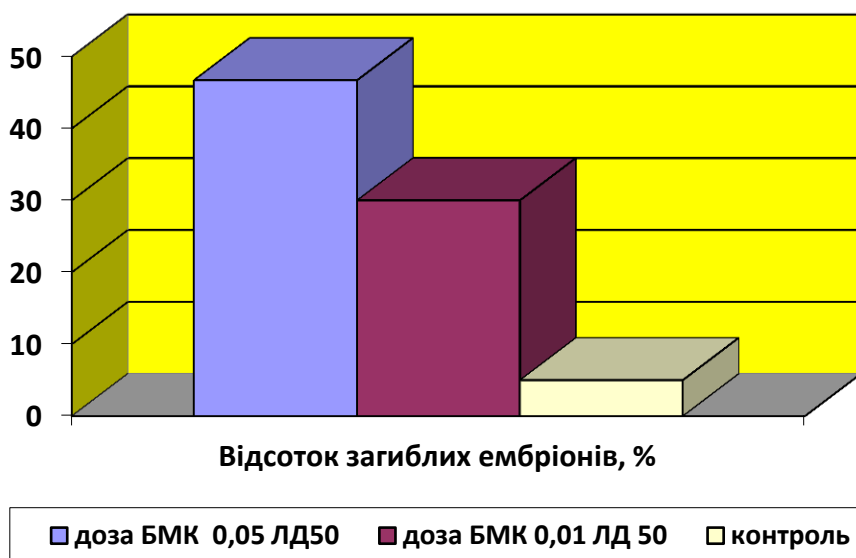


Рис. 1. Відсоток збереження і загибелі курячих ембріонів під впливом карбендазиму.

Тератогенний вплив карбендазиму також залежав від дози пестициду (табл. 2). Так, у групах курячих ембріонів відмічено недорозвинення або повна відсутність очей, відповідно, у 6,7-0 % ембріонів, дзьоба – у 6,7-3,3 %, однієї або обох кінцівок – у 10,0-6,7 %, незарощення черевної стінки і випадіння внутрішніх органів – у 13,3-6,7 % і у 6,7-3,3 % випадків реєстрували комбінації декількох потворностей. Відсоток неушкоджених ембріонів у I і II групі був на рівні 56,7-80,0 % відповідно.

незарощення черевної стінки і випадіння внутрішніх органів – у 13,3-6,7 % і у 6,7-3,3 % випадків реєстрували комбінації декількох потворностей. Відсоток неушкоджених ембріонів у I і II групі був на рівні 56,7-80,0 % відповідно.

Таблица 2

Тератогенний вплив вітатіураму на 9-11-денні курячі ембріони (КЕ), (n=100)

№ п/п	Види аномалій розвитку	Доза препарату			
		0,05 ЛД ₅₀		0,01 ЛД ₅₀	
		Група ембріонів			
		III (n=30)		IV (n=30)	
		Штук	%	Штук	%
1	КЕ без аномалій	17	56,7	24	80,0
2	Відсутність або недорозвинення: - очей	2	6,7	-	-
3	- дзьоба	2	6,7	1	3,3
4	- однієї або обох кінцівок	3	10,0	2	6,7
5	Незарощення черевної стінки і випадання внутрішніх органів	4	13,3	2	6,7
6	Різноманітні комбінації аномальних відхилень	2	6,7	1	3,3
	Всього	30	100	30	100

Висновки

Згідно з результатами проведеного дослідження, встановлено, що карбендазим проявляє тератогенний та ембріотоксичний вплив на курячі ембріони при введенні в алантоїсну порожнину в дозах 0,05 і 0,01 ЛД₅₀. Це явище супроводжується загибеллю ембріонів та розвитком окремих та комбінованих потворностей.

Перспективи подальших досліджень. Планується дослідження впливу карбендазиму на ембріони шурів, а також розробка системи профілактики отруєння цим пестицидом.

References

Adedara, I. A., Vaithinathana, S., Jubendradassa, R., Mathura, P. P., & Farombib, E. O. (2013). Kolaviron prevents carbendazim-induced steroidogenic dysfunction and apoptosis in testes of rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35, 3, 444-453. doi.org/10.1016/j.etap.01.010.

Aire, T. A. (2005). Short-term effects of carbendazim on the gross and microscopic features of the testes of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Anatomy and Embryology*, 210 (1), 43-49. doi:10.1007/s00429-005-0001-0.

Barlas, N., Selmanoglu, G., Kockaya, A., & Songür, S. (2002). Effects of carbendazim on rat thyroid, parathyroid, pituitary and adrenal glands and their hormones. *Human & Experimental Toxicology*, 21(4), 217-221. doi:10.1191/0960327102ht187oa.

Durand, P., Voisin, S., Karim N., Pisani C., Perrard, M-H., Guichaoua, M-R., Bulet, Ph. & Prat, O. (2016). Ex Vivo Assessment of Testicular Toxicity Induced by Carbendazim and Iprodione, Alone or in a Mixture. *Alternativen zu Tierexperimenten*, 33(4), 393-413. doi: 10.14573/altex.1601253.

Galtier, R. (1991). Metabolism of benzimidazoles; inducing activity of enzymes. *Action-Veterinaire*, 1174, 23-27.

Golyshin, N. M. (1993). *Fungitsidy*. Moskov : Kolos, 319. ISBN 5-10-001736-8. [in Russian].

Kochevenko, O.S., & Zhukova, I.O. (2014). Hostra toksychnist' karbendazymu dlya kurey. *Naukovyy visnyk LNUVMBT*, 16, 3(60), 2, 160-5. [in Ukrainian]

Kolyanchuk, YA.V. (2018). Izucheniyе gonado- i reproductivnoy toksichnosti karbendazima tekhnicheskogo na samtsakh i samkakh kryс Wistar Han. *Ukrainskiy zhurnal sovremennykh problem toksikologii*, 4(84). doi:10.33273/2663-4570-2018-84-4-36-41. [in Russian]

Lisovskaya, V. S., Zhmin'ko, P. G., & Shulyak, V. G. (2018). Otsenka toksicheskogo vliyaniya karbendazima na sistemu krovі kryс v usloviyakh ostroy peroral'noy intoksikatsii. *Vestnik problem biologii i meditsiny*, 2(144), 117-122. doi:10.29254/2077-4214-2018-2-144-117-122. [in Russian].

Lu, S. Y., Liao, J. W., Kuo, M. L., Wang, S. C., Hwang, J. S., & Ueng, T. H. (2004). Endocrine-disrupting activity in carbendazim-induced reproductive and developmental toxicity in rats. *J Toxicol Environ Health A*, 8, 67(19), 1501-15. doi:10.1080/15287390490486833.

Lu, S. Y. (2018). Androgen Receptor Plays a Vital Role in Benomyl- or Carbendazim-Induced Reproductive and Developmental Toxicity and Endocrine-Disrupting Activity in Rats. *Endocrine Disruptors*. doi: 10.5772/intechopen.78276.

Malinin, O. A., Khmel'nitskiy, G. A., & Kutsan A. T. (2002). *Veterinarnaya toksikologiya : ucheb. posobiye [dlya stud. vyssh. uch. zav.]*, 464. [in Russian]

Mel'nikov, N. N., Novozhilov, K. V. & Belan, S. A. (2001). *Pestitsidy i regulyatory rosta rasteniy*. Moskov : Khimiya. [in Russian]

Popova, L. M. (2009). *Khimicheskiye sredstva zashchity rasteniy*. Sankt-Peterburg: SPbGTURP. [in Russian]

Rama, E. M., Bortolanb S., Leivas, M. V., Ceccatto, D. C. G., & Moreirabet, E. G. (2014). Reproductive and possible hormonal effects of carbendazim. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 69, 3, 476-486. doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.05.016.

Sedokur, L. K. (Red.). (1986). *Spravochnik po pestitsidam: Gigiyena primeneniya i toksikologiya*. Kyiv : Urozhay. [in Russian]

Shepel'skaya, N. R., Ivanova, L. P., Sapozhnikova, S. D., & Grigorenko, L. I. (2013). Reproductivnaya toksichnoct'

fungisida karbendasima v eksperimente na samtsakh I samkakh krys Wistar. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*, 10(2), 328-329.

Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu embriotoksicheskogo deystviya farmakologicheskikh veshchestv i vliyaniye ikh na reproduktivnuyu funktsiyu : odobreny Farm. Kom. MZ SSSR 10 yanvarya 1988 g. [in Russian]