

ЦЕНТР ЭКОПЕСТИЦИДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ «ЭПИцентр»

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Центра

Р.С. Аптикаев

«02» ноября 2023 г.



**ОТЧЕТ**

о научно-исследовательской работе

«Определение хронической (репродуктивной) токсичности пестицида

**НОВОСИЛ, ВЭ (100 г/л тритерпеновых кислот древесной зелени пихты сибирской) для**

**дождевых червей»**

за 2023 год

Научный руководитель  
и ответственный исполнитель работы  
кандидат биологических наук

Р.А. Стрелецкий

Москва - 2023 г.

ЦЕНТР ЭКОПЕСТИЦИДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ «ЭПИцентр»

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Центра

Р.С. Аптикаев

«02» ноября 2023 г.



**ОТЧЕТ**

о научно-исследовательской работе

**«Определение хронической (репродуктивной) токсичности пестицида**

**НОВОСИЛ, ВЭ (100 г/л тритерпеновых кислот древесной зелени пихты сибирской) для  
дождевых червей»**

за 2023 год

Научный руководитель  
и ответственный исполнитель работы  
кандидат биологических наук

Р.А. Стрелецкий

Москва - 2023 г.

## Оглавление

Реферат .....	3
Введение .....	4
1. Объекты и методы исследования .....	5
1.1. Характеристика тестируемого препарата и действующего вещества .....	5
1.2. Методика тестирования.....	8
1.2.1. Дождевые черви .....	8
1.2.2. Искусственная почва.....	8
1.2.3. Обработка почвы препаратом .....	9
1.2.4. План исследования.....	9
1.2.5. Условия опыта .....	9
1.2.6. Учет результатов .....	10
2. Результаты тестирования препарата НОВОСИЛ, ВЭ и их обсуждение .....	10
2.1 Выживаемость материнских особей и сублетальные эффекты .....	10
2.2. Учет ювенильных особей и оценка хронической токсичности.....	12
Выводы .....	13
Литература .....	14
Приложение 1.....	15

## Реферат

Отчет изложен на 15 страницах, содержит 8 таблиц и 1 приложение.

В лабораторных условиях определены показатели репродуктивной токсичности препарата НОВОСИЛ, ВЭ для дождевых червей тестового вида *Eisenia fetida*. По полученным показателям NOEC = 25 мг/кг. Препарат НОВОСИЛ, ВЭ не оказывал существенного влияния на живой вес дождевых червей в проведенном эксперименте.

*Ключевые слова: регулятор роста растений, Новосил, дождевые черви, хроническая токсичность, недействующая эффективная концентрация (NOEC).*

## Список исполнителей

Инженер-испытатель Центра экопестицидных исследований	Пилик Р.И.
Инженер-испытатель Центра экопестицидных исследований	Зеленова Е.П.
Инженер-испытатель Центра лабораторных исследований пестицидов	Бауэр П.А.
Лаборант Центра лабораторных исследований пестицидов	Смольский Е.Ю.

## **Введение**

НОВОСИЛ, ВЭ – регулятор роста растений.

Цель данного исследования – определение репродуктивной токсичности препарата НОВОСИЛ, ВЭ для дождевых червей. Определение этого показателя является частью исследований, проводимых при регистрации пестицидов в Российской Федерации (раздел 6.2, п. 6.2.1.2.20. «Сведения о пестициде»).

Работы выполнены в Центре экопестицидных исследований «ЭПИцентр», допущенном Минприроды РФ и Минсельхозом РФ к проведению регистрационных испытаний по экологической оценке пестицидов в Российской Федерации.

## 1. Объекты и методы исследования

### 1.1. Характеристика тестируемого препарата и действующего вещества

Нижеприведённые свойства взяты из заявки на регистрацию препарата [1].

**Наименование препарата:** НОВОСИЛ, ВЭ.

**Назначение:** регулятор роста растений

**Регистранты:** ООО НПП " Биохимзащита ". 633009, Новосибирская Область, Г. Бердск, Ул. Зеленая Роща, Д.7/35. Тел.: +7-383-212-59-22; e-mail: naturzachita@yandex.ru.

**Изготовители продукта:**

ООО НПП " Биохимзащита ", 633009, Новосибирская Область, Г. Бердск, Ул. Зеленая Роща, Д.7/35. Тел.: +7-383-212-59-22; e-mail: naturzachita@yandex.ru.

**Производитель действующего вещества:**

ООО НПП " Биохимзащита ", 633009, Новосибирская Область, Г. Бердск, Ул. Зеленая Роща, Д.7/35. Тел.: +7-383-212-59-22; e-mail: naturzachita@yandex.ru.

**Культуры:** см. таблица 1

**Вредные объекты:** см. таблица 1

**Способ применения:** см. таблица 1

**Кратность обработок:** см. таблица 1

**Норма применения:** см. таблица 1

Таблица 1. Сведения о применении препарата НОВОСИЛ, ВЭ

Культуры	Норма расхода препарата	Назначение	Способ, время обработки, норма расхода рабочей жидкости	Срок ожидания (кратность обработок)
Пшеница озимая	50 мл /т	Повышение полевой всхожести, усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням , ускорение созревания , повышение урожайности	Предпосевная обработка семян. Расход 10 л/т	-(1)
	30 мл/га		Опрыскивание растений: 1-е - в фазе кущения; 2-я - в фазе колошения. Расход 300 л / га	-(2)
Пшеница яровая	50 мл/т	Повышение полевой всхожести, усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности		-(1)
	30 м л/ га			-(2)
Ячмень	50 мл/т	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, ускорение созревания, повышение урожайности	Предпосевная обработка семян. Расход 10 л/т	-(1)
	30 мл/га		Опрыскивание растений в фазе кущения. Расход 300 л/га	-(1)

Культуры	Норма расхода препарата	Назначение	Способ, время обработки, норма расхода рабочей жидкости	Срок ожидания (кратность обработок)
Кукуруза	50 мл/Т	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания,	Предпосевная обработка семян. Расход 10 л/т	-(1)
	50 мл/га		Опрыскивание растений в фазе кущения. Расход 300 л/га	
Соя	20 мл/га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, ускорение созревания, повышение содержания масла в семенах.	Опрыскивание растений в фазе начала цветения.	-(1)
Гречиха	50 мл/га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, ускорение созревания, повышение урожайности	Опрыскивание 1-е – в фазе начала раскрытия цветков нижних соцветий, 2-е – в фазе массового цветения. Расход 300 л/га	-(2)
Подсолнечник	40 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение содержания масла в семенах	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе 2-4 листьев, 2-е - в фазе начала цветения. Расход 300 л/га	-(2)
Свёкла сахарная	20 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, повышение урожайности	Опрыскивание растений : 1-е - в фазе образования 8- 10 листьев, 2-ое - через 1 5 дней после первого опрыскивания. Расход 300 л/га	-(2)
Хлопчатник	75 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение содержания масла в семенах, улучшение качества волокна	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе начала бутонизации, 2-е - в фазе начала цветения. Расход 300 л/га	-(2)
Картофель	100 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение выхода товарных клубней , повышение качества продукции	- Опрыскивание растений: 1 -е - в фазе начала цветения , 2-е – в , фазе массового цветения, 3-е - - через 7 дней после второго опрыскивания . Расход 300 - л/га	-(3)
Лук на семена	100 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, повышение урожайности	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе массового стрелкования, 2-е - через 7 дней после первого опрыскивания , 3-через 7 дней после второго опрыскивания. Расход 300 л/га	-(3)
Лук на репку		Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности-	Опрыскивание растений: 1-е -в фазе образования 4-оголиста, 2-е - через 15 дней после первого опрыскивания. Расход 300 л/га	-(2)
Томат	50 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение выхода товарных плодов, повышение качества продукции	Опрыскивание растений: 1-е -в фазе цветения 1-ой кисти, 2-ое - в фазе цветения 2-ой кисти, 3-е - в фазе цветения 3-ей кисти. Расход 300 л/га	
Фасоль	20 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повы-	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе начала цветения, 2-е - в	-(3)

Культуры	Норма расхода препарата	Назначение	Способ, время обработки, норма расхода рабочей жидкости	Срок ожидания (кратность обработок)
		шение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности	фазе массового цветения, 3-е - через 7 дней после второго опрыскивания. Расход 300 л/га	
Огурец	15 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение выхода товарных плодов, повышение качества продукции	Опрыскивание растений :1-е -в фазе образования 2-4 настоящих листьев, 2-е - в начале цветения, 3-е - в фазе массового цветения, 4-е - через 7 дней после третьего опрыскивания. Расход 300 л/га	-(4)
Капуста белокочанная	40 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, повышение урожайности, увеличение выхода товарных плодов, повышение качества продукции	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе образования 6-7 листьев, 2-е - в фазе массового завязывания кочанов. Расход 300 л/ га	-(2)
Виноград	50 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение урожайности, повышение качества продукции	Опрыскивание растений : 1-е- в фазе цветения, 2-е - через 12 дней после первого опрыскивания. Расход 600 л/га	-(2)
Люцерна на семена	50 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, ускорение созревания, повышение урожайности	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе бутонизации, 2-е - в фазе массового цветения. Расход 300 л/ га	-(2)
Овес	60 мл /т,	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности	Предпосевная обработка семян. Расход 10 л/т-	-( 1)
	50 мл /га		Опрыскивание растений в фазе 5-6 листьев. Расход 300 л/га	-( 1)

На испытание заказчиком (ООО НПП «Биохимзащита») был представлен образец препарата – НОВОСИЛ, ВЭ (100 г/л) в пластиковом флаконе заводского производства. Основные сведения о представленном в качестве образца для исследования препарате представлены в таблице 2.

Таблица 2. Основные сведения о препарате НОВОСИЛ, ВЭ

Состав препарата	<b>Действующие вещества:</b> ISO: Природная смесь тритерпеновых кислот из древесной зелени (хвои) пихты сибирской общей формулы C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub> . IUPAC: 1) (24 E)-3,23-диоксо- 7,24-(9β)ланостадиен-26-овая кислота, 2) (24E)-23-оксо-7,14,24-(β)мериеситриен-3α-ол-26-овая кислота, CAS: 107584-83 -8
Количество действующих веществ	100 г/л
Препаративная форма	Водная эмульсия (ВЭ)
Описание образца	Жидкость
Нормативная и/или техническая документация	Паспорт безопасности (Приложение 1)
Стабильность при хранении	-



## 1.2. Методика тестирования

Оценку хронической токсичности препарата для дождевых червей проводили по методике, изложенной в ГОСТ 33042-2014 «Тест на репродуктивность дождевых червей» [2].

### 1.2.1. Дождевые черви

Для проведения опыта были использованы черви вида *Eisenia fetida fetida*, живой массой около 300–400 мг двухмесячного возраста (половозрелые), представляющие собой синхронизированную культуру, полученную из коконов, отобранных одновременно и пересаженных в отдельную емкость для разведения. Из 100 отобранных коконов удалось получить 600 ювенильных особей, из которых 160 были затем использованы в опыте. *Eisenia fetida* не совсем типичный почвенный вид, хотя он и обнаружен в почвах, богатых органическими остатками, является основным видом, используемым для оценки токсичности пестицидов. Черви этого вида более чувствительны к химикатам, чем черви подлинных почвенных видов.

### 1.2.2. Искусственная почва

Искусственная почва, используемая в тесте, приготовлена из следующих компонентов:

70 % – Кварцевый песок (с преобладанием частиц 50 – 200 мкм – более 50 %);

20 % – Каолиновая глина (содержание каолина – более 30 %);

10% – Сфагновый торф (рН 5,5 – 6,0, верховой, воздушно-сухой влажности);

рН искусственной почвы находился в пределах 6,0 – 6,5.

Компоненты искусственной почвы тщательно перемешивали и доводили до влажности 50 %, которую рассчитывали по формуле:

$$W = m_1/m_2 \times 100 \%, \text{ где}$$

W – влажность почвы, %;

$m_1$  – масса воды в почве, г;

$m_2$  – масса сухой почвы, г

### 1.2.3. Обработка почвы препаратом

Червей помещали в стеклянные сосуды ёмкостью 1 л с почвой, обработанной водным раствором препарата НОВОСИЛ, ВЭ:

Таблица 3

Основной тест

Группа	Обработка	Концентрация препарата НОВОСИЛ, ВЭ (в почве (мг/кг))
1	Контроль	0,0
2	НОВОСИЛ, ВЭ	1,25
3	НОВОСИЛ, ВЭ	12,5
4	НОВОСИЛ, ВЭ	25

Минимальная экспериментальная концентрация была взята исходя из пятикратной ожидаемой концентрации препарата в почве в момент применения согласно максимальной норме с учетом кратности обработок при отсутствии перехвата и прочих потерь. Расчетная толщина слоя почвы 10 см. Также в эксперименте были использованы концентрации, соответствующие десяти- и стократной норме применения.

### 1.2.4. План исследования

План исследований представлен в таблице 4.

Таблица 4

План исследования

День 0	Помещение червей в сосуд с искусственной почвой для акклиматизации
День 1	Обработка почвы препаратом. Взвешивание и посадка червей в сосуды по 10 шт.
День 7	Кормление взрослых червей (коровий навоз из расчета 5 г/банку в пересчете на сухую массу)
День 14	Кормление взрослых червей
День 21	Кормление взрослых червей
День 28	Удаление и взвешивание взрослых червей
День 56	Удаление и подсчет молоди

### 1.2.5. Условия опыта

Порцию сухой искусственной почвы рассыпали на подносе, затем добавляли мелкими порциями дистиллированную воду с разведенным в ней препаратом необходимой концентрации и давали впитаться, после чего переносили в банку. Данную операцию проводили для

каждой банки (повторности). В контроле использовали только дистиллированную воду без препарата. Масса влажной почвы в каждом сосуде составляла 750 г.

Дождевых червей для акклиматизации за сутки до проведения теста помещали в сосуд с необработанной искусственной почвой, а в первый день опыта, промыв червей в дистиллированной воде, пересаживали на поверхность обработанной почвы, расфасованной по сосудам. Сосуды накрывали стеклом.

Освещение поддерживалось в пределах 480 – 530 лк с помощью ламп дневного света в режиме «16 часов света-8 часов темноты». Температура в течение опыта находилась в пределах  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ .

#### 1.2.6. Учет результатов

##### *Подсчёт и взвешивание взрослых червей*

На 28-й день содержимое сосудов опрокидывали и исследовали. Погибшим считался червь, не реагирующий на механические раздражения, производимые по направлению от переднего конца к заднему. Также производили взвешивание.

##### *Подсчёт молоди*

На 56-й день сосуды помещали в водяную баню нагретую до  $40^\circ\text{C}$  и выставляли температуру на  $60^\circ$ . Через 20 мин собирали собравшихся на поверхности червей, пересаживали в чашку Петри и подсчитывали.

## 2. Результаты тестирования препарата НОВОСИЛ, ВЭ и их обсуждение

### 2.1 Выживаемость материнских особей и сублетальные эффекты

В основном тесте использовали 4 концентрации, их ранжированный ряд находился в пределах 0 – 25 мг/кг препарата НОВОСИЛ, ВЭ. Для каждой концентрации использовали 4 повторности (40 червей). Смертность взрослых червей через 28 суток в контроле и тестовых концентрациях отмечена не была (критерий приемлемости теста) (таблице 5). Изменение массы взрослых червей приведено в таблице 6. Сублетальные эффекты на данном этапе не были отмечены.

Таблица 5

Смертность взрослых червей *Eisenia fetida* под воздействием препарата НОВОСИЛ, ВЭ на 28 сутки теста на репродуктивную способность.

Группа	Концентрация в почве, мг/кг препарата НОВОСИЛ, ВЭ	Количество червей в группе	Погибло червей на 28 день	Смертность, %
1	Контроль, 0	40	0	0
2	0,0	40	0	0
3	1,25	40	0	0
4	12,5	40	0	0
5	25	40	0	0

Таблица 5

Изменение живой массы дождевых червей в период проведения основного теста

Группа	Концентрация препарата НОВОСИЛ, ВЭ, мг/кг почвы	Повторность	Живая масса червей (мг)		Изменение живой массы червей за 14 дней, %
			1 сутки	14 сутки	
1	Контроль, 0	A	3960	3950	0,5
		B	3870	3890	1,8
		C	3940	3930	1,0
		D	4010	4020	3,2
		Средняя по группе	3923	3923	1,1
2	1,25	A	3860	3810	-1,3
		B	3890	3820	-1,8
		C	3920	3920	0,0
		D	3970	3950	-0,5
		Средняя по группе	3890	3875	-1,0
3	12,5	A	3910	3960	1,3
		B	3880	3920	1,0
		C	3960	3910	-1,3
		D	3770	3820	1,3
		Средняя по группе	3917	3903	0,3
4	25	A	3840	3860	0,5
		B	3930	3960	0,8
		C	3780	3810	0,8
		D	3810	3800	-0,3
		Средняя по группе	3850	3858	0,7

## 2.2. Учет ювенильных особей и оценка хронической токсичности

Количество родившейся молоди по прошествии 56 суток приведено в таблице 7. Варьирование количества родившейся молоди для контрольного варианта не превышает 30% (критерий приемлемости теста). Можно отметить, что средние значения количества молоди в вариантах с препаратом не отличаются от контроля. Для подтверждения данного вывода был проведен однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Мы видим, что анализ показывает недостоверное различие средних, а значит препарат не подавляет репродуктивную функцию червей.

Таблица 7

Количество родившейся молоди за 56 суток эксперимента

Варианты	Повторность	Повторность	Повторность	Повторность	Среднее значение
	1	2	3	4	
	кол-во молоди, штук				
контроль	141	125	117	124	127
5-кратная (1,25 мг/кг)	109	128	118	138	123
10-кратная (12,5 мг/кг)	138	142	115	147	136
100-кратная (25 мг/кг)	128	134	111	114	122

Таблица 8

Однофакторный дисперсионный анализ для всех вариантов эксперимента

Источник вариации	SS	df	MS	F	P-Значение	F критическое
Между группами	455,1875	3	151,7291667	1,043260278	0,408755305	3,490294821
Внутри групп	1745,25	12	145,4375			
Итого	2200,4375	15				

\*Нулевая гипотеза не отвергается, препарат не подавляет репродуктивную функцию червей

Недействующая эффективная концентрация препарата НОЕС для репродуктивной функции червей составила 25 мг препарата/кг.

### Выводы

Результаты лабораторных исследований по определению хронической (репродуктивной) токсичности пестицида НОВОСИЛ, ВЭ на дождевых червях вида *Eisenia fetida* показали следующее:

1. NOEC препарата для репродуктивной функции дождевых червей вида *Eisenia fetida* составляет 25 мг/кг.
2. Сублетальные эффекты, проявляющиеся в снижении живого веса червей, не были отмечены.

### Литература

1. СВЕДЕНИЯ О ПЕСТИЦИДЕ НОВОСИЛ, ВЭ, ООО НПП «Биохимзащита», 2023, 19 с.
2. ГОСТ 33042-2014 «Тест на репродуктивность дождевых червей», 2015, 20 с.
3. Ecotoxicology of Earthworms. General Editors: P.W. Greig-Smith, H. Becker, P.J. Edwards, F. Heimbach. Intercept Ltd, 1992, 269 pp.
4. Finney D.J. Probit Analysis (2nd Ed.). Journal of the Institute of Actuaries. 1952, v.78, № 3, p. 388-390.


Приложение 1.

ПАСПОРТ БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

Внесен в Регистр Паспортов безопасности

РПБ № 14.399922.20.5240.9 от «20» июня 2018 г.  
 Действителен до «20» июня 2023 г.

Ассоциация «Некоммерческое партнерство  
 «Координационно-информационный центр государств-участников СНГ  
 по сближению регуляторных практик»

Заместитель директора Муратов /  
 М.П.  М.П. Муратова/

НАИМЕНОВАНИЕ

техническое (по НД)

химическое (по IUPAC)

торговое

синонимы

Код ОКЦД 2 20.20.13.120 Код ТН ВЭД 3808939000

Условное обозначение и наименование нормативного, технического или информационного документа на продукцию (ГОСТ, ТУ, ОСТ, СТО, (M)SDS)

ХАРАКТЕРИСТИКА ОПАСНОСТИ

Сигнальное слово

Краткая (словесная): Умеренно опасный продукт по степени воздействия на организм согласно ГОСТ 12.1.007. При попадании на кожу и в глаза вызывает раздражение. Вреден при вдыхании. При нарушении правил обращения и хранения может загрязнять объекты окружающей среды.

Подробная: в 16-ти прилагаемых разделах Паспорта безопасности

ОСНОВНЫЕ ОПАСНЫЕ КОМПОНЕНТЫ	ПДК р.з., мг/м <sup>3</sup>	Класс опасности	№ CAS	№ ЕС
Тритерпеновые кислоты	не установлена	нет	нет	нет

ЗАЯВИТЕЛЬ: ООО НПФ «БИОХИМЗАЩИТА», Новосибирская область, г. Бердск  
 (наименование организации) (город)

Тип заявителя: производитель, поставщик, продавец, экспортер, импортер  
 (ненужное зачеркнуть)

Код ОКПО 1439922 Телефон экстренной связи +7 (383) 212-59-22

Руководитель организации-заявителя Фрольченко О. В. /  
 (подпись) (расшифровка)

