

BARBARA MIKOŁAJCZAK, MICHAŁ BOHOSIEWICZ

Laboratoryjna diagnostyka zatruc pszczoł Metyloparationem i Fenitrotonem

Instytut Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynarii WSR we Wrocławiu

Dyrektor Instytutu: prof. dr T. GARBULIŃSKI

Kierownik tematu: doc. dr habil. M. BOHOSIEWICZ

Zatrucia pszczoł insektycydami fosforoorganicznymi nie należą do rzadkich, przy czym na czoło ich wysuwają się zatrucia preparatami opartymi na Metyloparationie lub Fenitrotonie. Chemiczna diagnostyka tych zatruc opiera się na wykrywaniu w badanych materiałach produktów hydrolizy wymienionych związków: w przypadku Metyloparationu — p-nitrofenolu, a Fenitrotonu — 4-nitro-m-krezolu.

Jednym z częściej stosowanych w rolnictwie insektycydów fosforoorganicznych jest preparat Wofatox oparty na Metyloparationie. Do 1966 r. w przypadkach zatruc pszczoł tym środkiem, wykrywano p-nitrofenol metodą Lawforda-Harveya, zaadaptowaną do wykrywania tego związku w paszach i treści przewodu pokarmowego.

W 1967 r. wprowadzono do obrotu preparat o nazwie Folition, którego ciałem czynnym jest Fenitroton. Z chwilą rozpoczęcia stosowania tego środka w ochronie roślin należało opracować metodę pozwalającą na zróżnicowanie produktów hydrolizy Metyloparationu i Fenitrotonu. Konieczność posługiwania się taką metodą była tym pilniejsza, iż zabiegi owadobójcze wykonywano niekiedy przy równoczesnym użyciu preparatów opartych na Metyloparationie lub Fenitrotonie.

W badaniach własnych do wykrywania p-nitrofenolu i 4-nitro-m-krezolu oraz do rozdzielenia tych związków zastosowano zmodyfikowaną metodę chromatografii bibułowej Ernego. Wyniki wstępnych badań roztworów wzorcowych oraz materiałów biologicznych, do których dodawano różne ilości preparatów opartych na omawianych związkach wykazały, że opracowaną metodę można zastosować do chemicznej diagnostyki zatruc pszczoł insektycydami zawierającymi w swym składzie Metyloparation lub Fenitroton.

Ostateczny tok analizy przedstawia się następująco: rozdrobnione pszczoły, rośliny lub ziemię z plantacji, zalewa się 100–150 ml destylowanej wody, dodaje 3–5 ml stężonego kwasu solnego i po 24 godz. sączy. Przesącz ekstrahuje się dwukrotnie eterem etylowym, frakcje eterowe łączy się i odparowuje na łaźni wodnej. Pozostałość rozpuszcza się w małej ilości n-butanolu i nanosi ilościowo na bibułę chromatograficzną Whatman I. Chromatogram rozwija się techniką wstępującą przez 16–18 godz. w temp. 18–20°C; jako fazy ruchomej używa się n-butanolu wysyczonego 5 M amoniakiem w ciągu 3 dni.

Produkty hydrolizy metyloparationu i fenitrotonu dają na chromatogramie żółtopomarańczowe plamki. Intensywność zabarwienia wzrasta pod wpływem działania par amoniaku; po usunięciu bibuły z atmosfery amoniaku barwa powraca do normalnej. Zabieg poddawania działania par amoniaku można powtarzać wielokrotnie.

R_f dla wzorcowych roztworów p-nitrofenolu i 4-nitro-m-krezolu wynosi odpowiednio 0,500±10 i 0,680±15, zaś czułość metody — 3 i 5 µg. Najlepsze wyniki uzyskuje się przy wykropleniu 10–15 µg; większe ilości powodują wydłużenie i rozmycie plamek, co utrudnia rozdział związków. W przypadku obecności większej ilości zanieczyszczeń w wyciągach z materiałów biologicznych występują niekiedy na chromatogramie nietypowe smugi, umiejscawiające się w pobliżu czołowej linii rozpuszczalnika (R_f powyżej 0,75–0,80) albo pozostające w pobliżu punktu startu. Identyfikacja związku polega na porównaniu R_f plamki uzyskanej z badanych materiałów z R_f plamek roztworów wzorcowych, naniesionych na ten sam chromatogram.

Omówiona metoda pozwala na jakościowe wykrywanie małych ilości p-nitrofenolu i 4-nitro-m-krezolu oraz na ich rozdział. Od 1967 r. wykorzystuje się ją w tutejszej pracowni do laboratoryjnej, chemicznej diagnostyki zatruc pszczoł preparatami opartymi na Metyloparationie lub Fenitrotonie. W latach 1967–1970 badano w tutejszej pracowni 70 przypadków, w których podejrzewano zatrucia insektycydami opartymi na wymienionych związkach. Przy użyciu wymienionej metody rozpoznano zatrucia takimi preparatami w 39 przypadkach tj. w 55,71% badanych spraw. Wyniki badań otrzymywanych materiałów przedstawiono w tab. 1.

Tab. 1. Zestawienie materiałów badanych w kierunku obecności p-nitrofenolu i 4-nitro-m-krezolu

Ilość badanych spraw	Badany materiał	Ilość badanych prób	Badania w kierunku;					
			p-nitrofenolu		4-nitro-m-krezolu		obydwu związków	
			+	–	+	–	+	–
70	martwe pszczoły	76	19	21	24	8	2	2
	rośliny z plantacji	38	14	5	13	5	–	1
	ziemia z plantacji	29	9	5	7	6	1	1

Dane z pism towarzyszących materiałom, których wyniki badań były dodatnie wskazywały, że zatrucia były spowodowane preparatami Wofatox lub Folition. Wofatox stosowano głównie na plantacjach buraków cukrowych i rzepaku, zaś Folition głównie na uprawach grochu, a w pojedynczych przypadkach bobiku, kminku i w sadach. W wielu przypadkach pszczelarze nie byli powiadamiani o mających nastąpić zabiegach na terenach, w pobliżu których znajdowały się pasieki. W burakach często kwitły chwasty, a opylane rzepaki były we wcześniejszym lub późniejszym stadium kwit-

nienia. Przy stosowaniu Folitionu z samolotunolu lub 4-nitro-m-krezolu można stwierdzić wiatr często zwiewał preparat z nad obszaru, na którym wykonywano zabieg na sąsiednie, kwitnące uprawy, oblatywane przez pszczoły. Rozpoznane zatrucia występowały w pasiekach usytuowanych w różnej odległości od terenów, na których przeprowadzano zabiegi owadobójcze.

W krajowym wykazie pestycydów z 1970 r., dopuszczonych do stosowania w rolnictwie, znajdują się nazwy 3 preparatów opartych na Metyloparationie („Wofatox Spritzpulver 30”, „Wofatox płynny” i „Wofatox pylisty”) i 6 opartych na Fenitrothionie („Fenitrothion Ciba 50 EC”, „Foliothion EC 50”, „Foliothion pylisty 5”, „Metation E-50”, „Owadafos pylisty 5” i „Owadafos płynny 50”). Przy takiej liczbie środków owadobójczych zawierających te same ciała czynne jest zrozumiałe, że w oparciu o wykrycie w badanych materiałach p-nitrofe-

zatrucie, nie można jednak w żadnym wypadku podać nazwy preparatu, który je spowodował.

W przypadkach terenowych zatruc pszczoł, podstawowym obowiązkiem komisji badającej przyczyny zamierania owadów jest ustalenie handlowej nazwy preparatu stosowanego w krytycznym czasie; pozwala to przede wszystkim na podjęcie badań laboratoryjnych we właściwym kierunku. Dodatni wynik badań chemicznych przy znanej nazwie użytego insektycydu z reguły pozwala na określenie preparatu, który spowodował zatrucie.

Piśmiennictwo

1. Erne K.: Acta pharmac. tox. 14, 173-187, 1953.
2. Lawford D. J., Harvey D. G.: Analyst Lond., 78, 63-65, 1953.
3. Mikołajczak B., Bohosiewicz M.: Medycyna Wet., 23, 664, 1967.

Adres autora: Barbara Mikołajczak, Wrocław, ul. Norwida 31.

FELIKS KOZŁOWSKI

Badania nad zastosowaniem Furazolidonu w leczeniu posocznicy karpi*)

Sam. Pracownia Biologii Ryb i Środowiska Wodnego w Zatorze Instytutu Zootechniki w Krakowie
Kierownik: mgr inż. Z. RYCHLIŃSKI

Leki nitrofuranowe nie były dotychczas stosowane w Polsce w leczeniu zakaźnych chorób ryb. Znalazły już jednak zastosowanie za granicą w leczeniu przede wszystkim wrzodzeni-
cy łososiowatych i posocznicy karpi.

Leki te do ichtiopatologii wprowadził pierwszy w USA Gutsell (7). W kilka lat później Post (18) zastosował Furazolidon w leczeniu wrzodzeni-
cy u pstrągów. Ustalił dawkę leczniczą w tym schorzeniu u pstrągów na 25 mg Furazolidonu na 1 kg ryb podawaną w karmie codziennie przez 20 dni (19), oraz wspólnie z Keissem (20) przeprowadził badania nad toksycznością Furazolidonu dla pstrągów. W dalszej pracy Heaton i Post (9) oznaczyli czas utrzymywania się stężenia Furazolidonu w tkankach pstrągów po przeprowadzonym leczeniu. Ostatnio Amend i Ross (1) donieśli o pozytywnych wynikach uzyskanych w doświadczeniach nad preparatem furanowym prod. japońskiej P-7138 w leczeniu choroby łososi wywołanej przez drobnoustrój *Chondrococcus columnaris*.

W Czechosłowacji Havelka i Volf (8) w doświadczeniach nad leczeniem wrzodzeni-
cy pstrągów przeprowadzili badania wstępne nad wrażliwością szczepów *Aeromonas salmonicida* na niektóre antybiotyki i sulfonamidy. Włączyli też do tych badań związek furanowy —

furantoinę — i stwierdzili wysoką bakterio-
statyczną aktywność tego związku na te szczepy.

Podobne badania w odniesieniu do szczepów *Aeromonas punctata*, uważanych przez niektórych autorów za czynnik etiologiczny posocznicy karpi, przeprowadzili Mesaros, Pleva i Lucky (17).

Janeček natomiast otrzymał dobre wyniki w leczeniu posocznicy karpi stosując Furazolidon w dawkach od 2 do 16 g na 1 kg zadanej karmy.

O skutecznym leczeniu posocznicy karpi biofuranem 10 (biomycyna + nitrofurazol + witamina B₁₂) donieśli z Bułgarii Jankov i Bajlozov (11) oraz Jankov (12), który zastosował z dobrym skutkiem w leczeniu posocznicy karpi Furazolidon i Nitrofen w dawce 3 g/kg, a Nitrofurazon w dawce 5 g/kg karmy.

Fijan, Kunst, Tomasec (5), Tomasec i Sver (23) z Jugosławii, jako zdecydowani zwolennicy teorii tła wirusowego posocznicy karpi, przyznają jednak skuteczność leczenia tego schorzenia antybiotykami, jak również związkami furanowymi, które według nich działają skutecznie na infekcje wtórne wynikłe w czasie przebiegu tego schorzenia.

Ostatnio Kulow i Spangenberg (16) z NRD zalecają również Furazolidon w leczeniu posocznicy karpi w dawce 100 mg/kg ryb zadawanej w karmie przez okres pięciu do sześciu dni.

*) Praca referowana na III Zjeździe Ichtiopatologów w Szczecinie, 9.I.1970 r.