

Корни, образованные в культуре *in vitro*, анатомически отличаются от корней *ex vitro*. Они содержат меньшее количество крахмальных зерен, низкое содержание лигнина и относительно низкое содержание васкулярных тканей. Поверхность корней, образовавшихся в культуре *in vitro*, и их апексы густо покрыты волосками. На этой стадии вероятно образование многочисленных каллусных клеток между волосками. В процессе адаптации *in vitro* корни теряют свои волоски, останавливается их рост. Такие корни способны поглощать питательные вещества из почвы, быстро расти, и из них развиваются новые корни. Эти новые корни имеют широкую зону всасывания, огромное количество волосков, а каллусные клетки между волосками отсутствуют.

Следует отметить, что эти корни не могут обеспечить растение всей необходимой водой, но в период акклиматизации водная потребность покрывается за счет создаваемой в первые дни адаптации влажности. Таким образом, наличие каллуса у основания, витрифицированных, утолщенных корней осложняет процесс адаптации растений-регенерантов к нестерильным условиям. На питательной среде, содержащей активированный уголь, образование каллуса не отмечалось. На питательной среде с коммерческим препаратом «Полифам» доля растений с каллусом составила 14,3%, что является достаточно невысоким показателем.

Таким образом, добавление сорбентов в питательную среду MS способствует повышению доли укорененных растений до 100,0 % (при использовании активированного угля) и активному росту корней (средняя длина корней – 4,1 см при использовании коммерческого препарата «Полифам», состоящего из гидролизованного лизина, и активированного угля. Образование каллуса не отмечается у растений на питательной среде с активированным углем.

Растения, укорененные в условиях *ex vitro*, быстрее адаптируются к новым условиям, переживая физиологический стресс, на этапе укоренения, а не на этапе адаптации, как это наблюдается у растений, укореняемых в условиях *in vitro*. Применение двухслойного субстрата, состоящего из нижнего слоя мха *sp. Sphagnum* и верхнего слоя – торфяного субстрата «Двина» позволило получить 90,0% укорененных растений-регенерантов формы *Shirofugen*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дуца М. *Prunus serrulata* var. 'Kanzan' microshoots behavior during *in vitro* rooting and acclimatization phases / М. Дуца // Current Trends in Natural Sciences. 2012;1:1:85–89.

2. Красинская, Т. А. Ризогенез подвоев рода *Cerasus* Mill. в условиях *in vitro* / Т.А. Красинская // Веснік Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2006;5:98–101.

3. Li Yan Min. Study on explants and tissue culture of *Prunus serrulata* Royal burgundy / Li Yan Min [et. al.] // Journal of Henan Agricultural Sciences. 2012;127–130.

4. Дуца М. *In vitro* perfected propagation biotechnology of *Prunus serrulata* species / Дуца М, Опря МІ, Конциоіу МЕ. Режим доступа: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.717.5589&rep=rep1&type=pdf>. – Дата доступа: 1.04.2021.

5. Красинская, Т. А. Ризогенез *ex vitro* растений рода *Cerasus* Mill. // Актуальні проблеми ботаніки, екології та біотехнології: матеріали міжнародної конференції молодих учених-ботаніків, Київ, 2006 / Національна академія наук України, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Національний аграрний університет. – Київ, 2006;148–149.

## ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКВИВАЛЕНТНОЙ СМЕСИ ПРОТИОКОНАЗОЛА И ТЕБУКОНАЗОЛА НА ЖИВОТНЫХ

## TOXICOLOGICAL EVALUATION OF AN EQUIVALENT MIXTURE OF PROTIOCONAZOLE AND TEBUCONAZOLE IN ANIMALS

**И. Ф. Кутляхметов<sup>1</sup>, М. А. Атрошко<sup>2</sup>, Т. Н. Гомолко<sup>1</sup>**

**I. Kutliahmetov<sup>1</sup>, M. Atroshko<sup>2</sup>, T. Gomolko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Научно-практический центр гигиены, г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь

[Ilia-run@mail.ru](mailto:Ilia-run@mail.ru), [atroshkomikhail@gmail.com](mailto:atroshkomikhail@gmail.com)

<sup>1</sup>Scientific-practical center of hygiene, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

В данной публикации приведены современные подходы к оценке токсикологических характеристик комбинированных препаратов сельскохозяйственного назначения.

This publication presents modern approaches to the assessment of toxicological characteristics of combined agricultural preparations.

*Ключевые слова:* доза, оценка, крысы, триазолы.

*Keywords:* dose, evaluation, animals, triazole.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-1-274-277>

## Введение

Изучение токсических свойств средств защиты растений проводится с целью предотвращения или минимизации потенциального неблагоприятного воздействия на организм человека и окружающую среду [1, 2]. Злаковые являются одной из мировых стратегических культур и занимает важное место по объему производства в сельском хозяйстве. Посевы подвергаются воздействию многих грибковых инфекций на этапах их выращивания, некоторые из которых обладают способностью выделять ряд токсичных вторичных метаболитов, которые угрожают качеству зерна, здоровью потребителей, экономике производителей и глобальному торговому обмену.

Растения в основном подвергаются нападению нескольких фитопатогенных грибов во время выращивания, сбора урожая и хранения, что тесно связано со снижением производства и качества. Они могут распространяться как на здоровье потребителя, так и на экономическую ценность урожая. Возбудители грибкового происхождения являются наиболее важными семенными паразитами, которые коррелируют с поражением проростков пшеницы и корневой гнилью.

Известно, что протиконазол вызывает увеличение активности аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, уровня мочевины и холестерина. Отмечается снижение уровня тироксина, компенсаторное повышение уровня тиреотропного гормона и небольшое увеличение кальция в плазме. Наблюдалось увеличение активности этоксирезорифин-диэтилазы и снижение активности альдринэпоксидазы, наряду с этоксирезорифин-диэтилазы. Вещество вызывает изменения в почках, такие как увеличение частоты и тяжести базофилтных канальцев и дилатация кортикальных канальцев. Вещество снижает пролиферацию в почках, что коррелирует с наблюдением базофилии в почках. Увеличивает количество В-клеток селезенки и антигенпрезентирующих клеток.

## Материалы и методы

**Животные.** В качестве тест-системы были выбраны крысы, поскольку они являются легко доступным видом грызунов и рекомендуются для исследований. Исторически доказано, что они являются подходящей моделью для оценки острой пероральной токсичности. В опытах были использованы рандомбрендные белые крысы обоих полов собственного разведения, возраст 8–10 недель, масса тела 197–230 г. Для опыта брали интактных самок. Общее число использованных животных – 24 (по 3 самца и 3 самки в каждой дозовой группе).

**Приготовление доз.** Количество формуляции препарата было взвешено на автоматических весах и составило 150 г/л и 150 г/л. Изучаемое вещество использовали для тестирования без разбавления.

**Режим введения.** Перед введением дозы животных ограничивали в пище (т.е. крыс не кормили с вечера перед введением дозы, но поили). Вещество вводили крысам однократно внутрижелудочно через зонд. Объем вводимой дозы рассчитывали исходя из индивидуальной массы тела животного и разовый объем жидкости не превышал физиологической вместимости желудка (1 мл/100 г массы тела). Кормление животных осуществлялось через два часа после введения.

**Уровни доз.** На основании предварительных исследований для проведения исследования были выбраны следующие уровни доз: 3160, 3980, 5010 и 6340 мг/кг м.т. крысы.

**Наблюдения.** Наблюдение за крысами на наличие признаков интоксикации и гибели проводили после введения вещества в течение первых 30 минут, далее через 1, 2, 3 и 4 часов. Затем наблюдение за крысами проводили дважды в день течение 14 дней после введения препарата, фиксировали признаки интоксикации и 1 животных. Клинические симптомы интоксикации регистрировали. Массу тела каждого животного измеряли незадолго до введения тестируемого вещества в 1 день, на 7 и 14 день, а также на момент гибели или умерщвления.

**Некропсия.** Выжившие крысы в конце 14-дневного периода наблюдения, которые были умерщвлены при помощи эфирной анестезии, а также крысы, найденные мертвыми, были подвергнуты вскрытию. Макроскопические изменения, если таковые имелись, были записаны.

**Статистическая обработка данных.** Результаты исследований (масса тела животных) подвергли статистической обработке общепринятыми методами. Количественные параметры представлены в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD). Среднесмертельная доза (ЛД50) была рассчитана методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксона.

## Результаты исследований

Однократное внутрижелудочное введение самцам и самкам крыс веществ вызвало гибель животных на 1–3 сутки после введения. Гибель отмечена при следующих концентрациях препарата: 3160 мг/кг м.т. (1 самец и 1 самка), 5010 мг/кг м.т. (2 самца и 2 самки) и 6340 мг/кг м.т. (2 самца и 2 самки).

После введения пестицида у животных зафиксированы клинические проявления острой интоксикации: снижение двигательной активности, жидкий стул, нарушение дыхания. У выживших животных признаков интоксикации исчезали на 1–5 сутки в зависимости от дозы воздействия.

У выживших крыс отмечено увеличение массы тела и прирост массы тела при регистрации показателей на 14 день исследования.

При проведении аутопсии животных, найденных мертвыми в первые и вторые сутки после введения пестицида, не наблюдалось каких-либо макроскопических изменений внутренних органов. У животных, найденных мертвыми на третий день исследования, отмечены изменения в печени (светлые пятна на поверхности). При осмотре животных, умерщвленных по окончании эксперимента на 15 сутки, не было выявлено каких-либо патологических изменений внутренних органов.

Определение параметров острой токсичности веществ при однократном пероральном пути поступления проводили на самцах и самках крыс (по 3 самца и 3 самки в группе) в дозах 3160, 3980, 5010 и 6340 мг/кг м.т. У животных наблюдались клинические признаки интоксикации, такие как снижение двигательной активности, жидкий стул, нарушение дыхания. У животных, погибших на третьи сутки, при вскрытии зафиксированы светлые пятна на поверхности печени (Таблицы 1, 2).

Среднесмертельная доза (ЛД50) протиоконазола + тебуконазола при однократном внутрижелудочном введении белым крысам составила 4800 (3700–6000) мг/кг м.т.

Таблица 1 – Индивидуальные данные наблюдения в течение 1 дня после воздействия

Пол	Группа	Доза, мг/кг м.т.	ИН животного	Клинические симптомы интоксикации, наблюдаемые после введения				
				Часы (1 День)				
				0,5	1	2	3	4
Самцы	1	3160	1	Н	Н	2	2	2
			2	Н	Н	2	2	2,4
			3	Н	Н	2	2	2
	2	3980	1	Н	Н	2,3	2,3	2,3
			2	Н	2	1,2,3	2,3	2,3
			3	Н	Н	2,3	2,3	2,3
	3	5010	1	Н	2	2,3	2,3	2,3
			2	Н	2	2,3	2,3	2,3,4
			3	Н	2	2,3	2,3	2,3,4
	4	6340	1	Н	2	2,3	2,3	2,3
			2	Н	2	2,3	2,3	2,3,4
			3	Н	2	2,3	2,3	2,3,4
Самки	1	3160	1	Н	Н	2	2	2,3,4
			2	Н	Н	2	2	2
			3	Н	Н	2	2	Н
	2	3980	1	Н	Н	2	2	2
			2	Н	Н	2,3	2,3	2,3,4
			3	Н	Н	2,3	2,3	2,4
	3	5010	1	Н	Н	2	2,3,4	2,3,4
			2	Н	Н	2,3	2,3	2,3
			3	Н	Н	2	2	2,3
	4	6340	1	Н	2,3	2,3	2,3	2,3
			2	Н	Н	2	2	2
			3	Н	3	2,3	2,3	2,3
– гибель			3 – нарушение дыхания			Н – норма		
– снижение двигательной активности			4 – жидкий стул					

Таблица 2 – Индивидуальные данные наблюдения на 2–14 сутки после воздействия

Пол	Группа	Доза, мг/кг м.т.	ин животного	Клинические симптомы интоксикации, наблюдаемые после введения											
				дни											
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12–14
Самцы	1	3160	1	2	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н
			2	2,4	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			3	2	2	2	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н
	2	3980	1	2,3	2	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н
			2	2,3	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н
			3	2,3	2	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н
	3	5010	1	2,3	2,4	4	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н
			2	2,3,4	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			3	2,3,4	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	4	6340	1	2,3	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			2	2,3,4	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			3	2,3,4	2,4	2,4	4	Н							
Самки	1	3160	1	2,3,4	4	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	
			2	2	1	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	
			3	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	
2	3980	1	2	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	
		2	2,3,4	4	4	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	
		3	2,4	2	2	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	
3	5010	1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
		2	2,3	2,4	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
		3	2,3	2	2	2	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	
4	6340	1	2,3	4	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	Н	
		2	2	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
		3	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
– гибель – снижение двигательной активности				3 – нарушение дыхания 4 – жидкий стул				Н – норма							

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Yakhin OI, Lubyaynov AA, Yakhin IA & Brown PH.* Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Frontiers in plant science.* 2017;7:2049. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>
2. *Nasiadek M, Danilewicz M, Sitarek K et al.* The effect of repeated cadmium oral exposure on the level of sex hormones, estrous cyclicity, and endometrium morphometry in female rats. *Environmental Science Pollution Research.* 2018;25:28025–28038. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2821-5>