

РОЗДІЛ 7. ВЕТЕРИНАРНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ТОКСИКОЛОГІЯ

УДК: 619:615.099.036.11:632.954:639.122

ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ГЛІФОСАТУ ДЛЯ ПЕРЕПЕЛІВ

Доценко Р. В., Оробченко О. Л., Романько М. Є., Ярошенко М. О., Герілович І. О., Філатова О. І.
Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: toxi-lab@vet.kharkov.ua

За умов отруєння гліфосатом у перепелів дослідних груп реєстрували пригнічення, слабку реакцію на зовнішні подразники, сидіння на одному місці. Патологоанатомічна картина характеризується такими змінами, як темно-вишневий колір і збільшення об'єму печінки; кровонаповнення судин тонкого кишечника, здуттям сліпих відростків товстого кишечника; збільшення об'єму нирок у порівнянні з контролем. За результатами загибелі перепелів у дослідних групах встановили, що LD_{50} складає $5227,25 \pm 209,98$ мг/кг, що дає підставу віднести його згідно гігієнічної класифікації пестицидів за Л. І. Медведьом та ДСП 8.8.1.2.002-98 до речовин мало токсичних (4-й клас небезпеки).

Ключові слова: гліфосат, перепели, гостре отруєння, LD_{50} , гербіциди

Широке застосування пестицидів у сільському господарстві особливе значення має визначення токсичного впливу на організм сільськогосподарських тварин та птиці [1]. Першим етапом токсикологічних досліджень пестицидів є визначення їх гострої токсичності, метою якого є одержання інформації щодо небезпечності досліджуваної речовини в умовах короткотривалої дії та в результаті проведення якого передбачається отримання даних про смертельні дози та симптоми гострого отруєння.

Гліфосат [N-(фосфометил)-гліцин] – гербіцид із широким спектром активності. Найпоширеніший гербіцид у світі. В Україні щорічне застосування гербіцидних препаратів на основі гліфосату складає 1–1,5 тис. тон [2].

Широке застосування гліфосату на зернових, кукурудзі, соняшникові, сої може призводити до його потрапляння в рослини, а звідти у корми для сільськогосподарських тварин, зокрема птиці. Тому, **метою нашої роботи** було визначити гостру токсичність гліфосату на моделі перепелів техаських.

Матеріали та методи. В експериментах, як дослідний зразок гліфосату у формі калійної солі, використовували препарат «Агроцит Супер» – системний гербіцид. Експерименти були проведені на 91 самці перепелу породи Техаський середньою масою ($200,0 \pm 20,0$) г, що утримувались за оптимальних умов віварію з дотриманням вимог щодо утримання та годівлі [3–5]. Птиця мала вільний доступ до води та корму.

Визначення діапазону доз для основного експерименту проводили у попередньому досліді. При цьому у попередньому експерименті за принципом аналогів було сформовано 4 дослідні групи, яким вводили гліфосат у дозах – 50, 500, 2000, і 5000 мг/кг маси тіла. У основному експерименті за принципом аналогів було сформовано 7 дослідних груп птиці, з наступними дозами — 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000 і 6500 мг/кг маси тіла. Також було сформовано контрольну групу птиці. У кожній групі було по 7 перепелів ($n=7$).

Слід зазначити, що маніпуляції над птицею здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів [6], що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотримання принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

За клінічним станом дослідної птиці спостерігали упродовж 14 діб. Відмічали появу та розвиток клінічних ознак отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми [3–5].

Після загибелі птиці проводили патологоанатомічний розтин. Для встановлення патологоанатомічних змін використовували макроскопічний суб'єктивний метод досліджень [7]. За результатами загибелі вираховували LD_{10} , LD_{16} , LD_{50} , LD_{84} , LD_{90} , LD_{100} та похибку LD_{50} методом пробіт-аналізу у модифікації В. Б. Прозоровського [8].

Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням пакета програм StatPlus 5.9.8.5. Дані представлені у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням за рівня довірчої ймовірності 95 %.

Результати досліджень. У попередньому досліді клінічні спостереження показали, що одноразове внутрішньошлункове введення емульсії Препарату перепелам I–III дослідних груп не викликало картини гострого отруєння. Птиця була активною, добре реагувала на зовнішні подразники, активно споживала корм та воду. У птиці IV дослідної групи протягом перших шести годин досліду реєстрували поступове пригнічення, зниження реакції на зовнішні подразники. Птиця сиділа переважно на одному місці. Загибель птиці відмічали у цій групі протягом першої доби після введення препарату (табл. 1).

У основному досліді під час спостереження за перепелами I дослідної групи не відмічали картини гострого отруєння. Птиця була активною, добре реагувала на зовнішні подразники, активно споживала корм та воду.

Таблиця 1 – Динаміка загибелі перепелів у попередньому досліді при визначенні гострої токсичності гліфосату (n=7)

Строки загибелі птиці, через	Групи птиці і дози пестициду, мг/кг маси тіла			
	I (50,0)	II (500,0)	III (2000,0)	IV (5000,0)
0–3 год	–	–	–	–
3–12 год	–	–	–	3
12–24 год	–	–	–	–
2 доба	–	–	–	–
3 доба	–	–	–	–
4–14 діб	–	–	–	–
Усього загиблі	–	–	–	3

У птиці II–VII дослідних груп протягом перших трьох годин досліді реєстрували поступовий розвиток пригнічення. Відмічали слабку реакцію на зовнішні подразники, птиця сиділа на одному місці. Загибель птиці спостерігали протягом першої доби після введення препарату (табл. 2).

Таблиця 2 – Динаміка загибелі перепелів в основному досліді при визначенні гострої токсичності гліфосату (n=7)

		Строки загибелі птиці, через					
		0 – 3 год	3 – 12 год	12 – 24 год	2 доба	3 -14 діб	Усього загинуло
Групи птиці і дози пестициду, мг/кг маси тіла	I (3500,0)	–	–	–	–	–	–
	II (4000,0)	–	–	–	–	–	–
	III (4500,0)	–	–	1	–	–	1
	IV (5000,0)	–	1	2	–	–	3
	V (5500,0)	–	3	1	–	–	4
	VI (6000,0)	–	4	2	–	–	6
	VII (6500,0)	1	4	2	–	–	7

У перепелів, що залишилися живими протягом першої доби, спостерігали загальне пригнічення, відсутність апетиту. На 2-у добу спостерігали поступову нормалізацію загального стану птиці. Клінічний стан характеризувався незначним пригніченням, перепела почали прийом корму та води. На третю добу у перепелів не виявляли ознак отруєння і в наступні дні їх загальний стан не відрізнявся від стану птиці контрольної групи.

Після загибелі птиці проводили патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів птиці перед розтином: змін видимих слизових оболонок і пір'яного покриву не відмічали. На розтині встановили: змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї глотки та стравоходу не відмічали; печінка збільшена, кровонаповнена, темно-вишневого кольору, жовчний міхур наповнений жовчю, судини тонкого кишечника кровонаповнені, відмічали здуття сліпих відростків товстого кишечника; нирки збільшені в об'ємі у порівнянні з контролем.

Наступним етапом вивчення токсикологічних характеристик гліфосату було визначення середньолетальної дози та її стандартної похибки (DL_{50} , DL_{10} , DL_{16} , DL_{84} , DL_{90} , DL_{100}). Середньолетальну дозу DL_{50} розраховували за методом пробіт-аналізу у модифікації за Прозоровським В.Б.

Токсикометричні параметри розраховували за методом найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності. Встановлено відсоток летальності, пробіти (Y), вагові коефіцієнти пробітів (Z). Для побудови графіка, обчислення DL_{50} та її помилки використовували формулу (1) прямої пропорційної залежності:

$$Y = A + B X \quad (1),$$

де: X – аргумент (місце дози),

Y – функція (пробіт),

A – вихідна точка на осі відсотків проти дози 1,

B – коефіцієнт пропорційності.

Коефіцієнти A і B знаходили із системи рівнянь другого ступеня: $(\sum K) A + (\sum XK) B = (\sum YK)$ $(\sum XK) A + (\sum X^2K) B = (\sum XYK)$.

Для побудови графіка на осі абсцис відкладали значення доз, а на осі ординат – значення ефекту (%). Графічне зображення кривої, що відображає залежність «доза-ефект» для перепелів самців представлено на рис. 1.

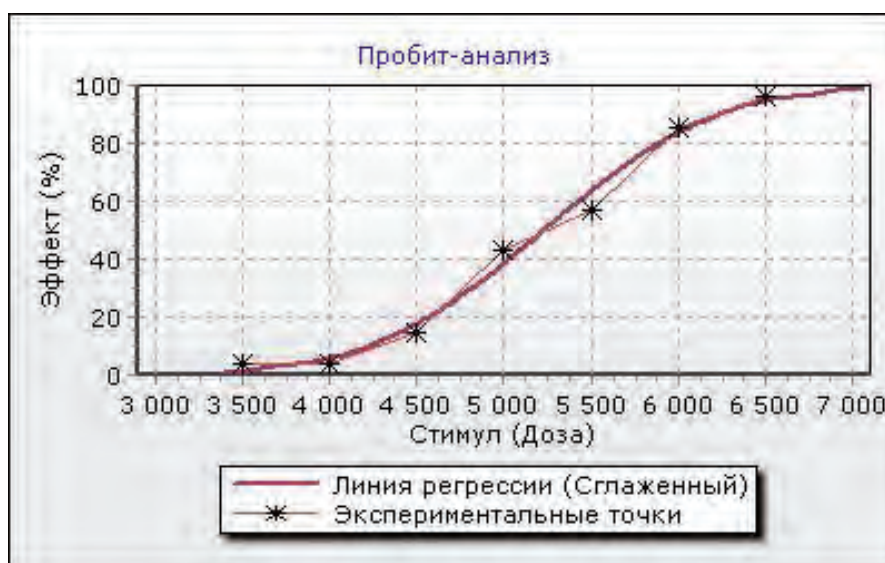


Рис. 1. Крива летальності перепелів (самців) за умов одноразового введення гліфосату

Результати обчислення середньолетальної дози гліфосату для перепелів самців за умов перорального введення наведено у таблиці 3.

За результатами досліджень встановили, що LD_{50} гліфосату за одноразового перорального введення складає $5227,25 \pm 209,98$ мг/кг, LD_{10} – 4220,23 мг/кг, LD_{16} – 4441,58 мг/кг, LD_{84} – 6012,92 мг/кг, LD_{90} – 6234,26 мг/кг, LD_{100} – 6405,75 мг/кг маси тіла відповідно.

Таблиця 3 – Результати обчислення летальних доз Препарату «Агроцит Супер» за умов одноразового перорального введення перепелам (самцям)

Стимул (Доза)	Відсоток (%)	N	Пробіт (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)
3500	0,0357	7	3,1968	1,3937
4000	0,0357	7	3,1968	1,3937
4500	0,1428	7	3,9324	3,2972
5000	0,4285	7	4,8203	4,8203
5500	0,5714	7	5,1796	4,8203
6000	0,8571	7	6,0675	3,2972
6500	0,9643	7	6,8031	1,3937
Регресійна статистика				

Розділ 7. Ветеринарна фармакологія та токсикологія

LD ₅₀	5227,24	LD ₅₀ Стандартна похибка	209,97
LD ₁₀	4220,23	LD ₁₆	4441,57
LD ₈₄	6012,91	LD ₉₀	6234,26
LD ₁₀₀	6405,74		

Отже, згідно гігієнічної класифікації пестицидів за Л. І. Медведьом [9–10] та ДСП 8.8.1.2.002-98 гліфосат за ступенем токсичності слід віднести до речовин малотоксичних (4-й клас небезпеки).

Висновки. Гостре отруєння гліфосатом перепелів тхаських проявляється наступними клінічними симптомами: пригніченням, слабкою реакцією на зовнішні подразники, сидінням на одному місці.

Патологоанатомічна картина за гострого отруєння гліфосатом характеризується такими змінами, як темно-вишневим кольором і збільшенням печінки, кровонаповненням судин тонкого кишечника, здуттям сліпих відростків товстого кишечника; збільшенням в об'ємі нирок у порівнянні з контролем.

За результатами досліджень встановили, що LD₅₀ гліфосат за одноразового перорального введення перепелам складає 5227,25±209,98 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його згідно гігієнічної класифікації пестицидів за Л. І. Медведьом (1987) та ДСП 8.8.1.2.002-98 до речовин малотоксичних (4-й клас небезпеки).

Перспективи подальших досліджень. Визначення параметрів гострої токсичності гліфосату для перепелів самок.

Список літератури

- Захаренко А.В. Гербициды. [Текст] / А.В. Захаренко, М.: Изд-во МСХА, 2000. — 95 с.
- Кузнецова Е.М. Глифосат: поведение в окружающей среде и уровни остатков [Текст] / Е.М., Кузнецова, В.Д. Чмиль, К.: СПТ - 2010, №1 (48) с 87-95.
- Коцюмбас, І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів [Текст] / І. Я. Коцюмбас. — Львів : Тріада плюс, 2005. — С. 134–147.
- US Environmental Protection Agency. Avian acute oral toxicity test. Washington, DC: 2012. Ecological effects test guidelines OCSPP 850.2100.
- Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов. — К., 1988. - 212 с.
- Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes [Text] // Official Journal of the European Communities L 358. — 1986. — P. 1-29.
- Жаров, А.В. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных [Текст] / А.В. Жаров, И.В. Иванов, А.П. Стрельников. — М.: Колос, 2003. — 400 с.
- Прозоровский, В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований [Текст] / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. — 2007. — Т. 7. — Вып. 3-4. — С. 2090-2120.
- Медведь Л.И. Гигиеническая классификация пестицидов по основным параметрам вредности / Л.И. Медведь, Ю.С. Каган, Е.И. Спын // Ветеринарная токсикология. — М., 1987. — 187 с.
- Державні санітарні правила і гігієнічні норми «Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності». ДСП 8.8.1.2.002-98.

DEFINITION OF ACUTE TOXICITY GLYPHOSATE ON QUAILS TEXAS

Dotsenko R. V., Orobchenko A. L., Romanko M. E., Jaroshenko M. O., Gerilovich I. A., Filatova O. I.
National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Medicine», Kharkov, Ukraine

In the conditions of an acute toxic exposure glyphosate at quails of research groups recorded oppression, weak reaction to external irritants, sitting on one place, occurrence of rare fecal masses throughout first two days of experience.

The pathoanatomical picture of an acute toxic exposure glyphosate is characterised by such changes as is dark-cherry colour and augmentation of volume of a liver, кровенаполнение receptacles of a thin intestine, an inflation of blind processes of a thick intestine; augmentation of volume of kidneys in comparison with the control.

By results of destruction of quails in skilled groups have established, that LD₅₀ glyphosate at disposable peroral injection to quails to males makes 5227,25±209,98 mg/kg of mass of a body which allows to carry glyphosate, according to hygienic classification of pesticides for L.I.Medvedem and NSR 8.8.1.2.002-98 to substances a little toxic (4th class of toxicity).

Keywords: glyphosate, a quail, an acute toxic exposure, LD₅₀, herbicides