

УДК 635.621:[581.132.1+581.175.11

UDC 635.621:[581.132.1+581.175.11

03.00.00 Биологические науки

Biology

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ БИОГУМАТА

DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY OF BIO HUMATES

Жолобова Инна Сергеевна
д.в.н., профессор, кафедра биотехнологии, биохимии и биофизики
РИНЦ 3082-9367
isg41@mail.ru

Zholobova Inna Sergeevna
Dr.Sci.Vet., professor
RSCI SPIN-code 3082-9367
isg41@mail.ru

Борисенко Виктор Васильевич
аспирант
borisenko.victor@mail.ru

Borisenko Viktor Vasilyevich
graduate student
borisenko.victor@mail.ru

Пастаногов Семен Алексеевич
студент
pastanogov.semen@mail.ru
Кубанский государственный аграрный университет, Россия, Краснодар, Калинина,13

Pastanogov Semen Alekseevich
student
pastanogov.semen@mail.ru
Kuban state agrarian University, Krasnodar, Russia

В настоящей работе изложены результаты исследования острой токсичности биогумата полученного методом вермикультивирования на лабораторных животных. В рационах сельскохозяйственных и домашних животных для восполнения недостающих элементов питания в последние годы широко используют различные кормовые добавки. В их числе минеральные (макро- и микроэлементы), белковые и жировые добавки, витамины, биостимуляторы, комплексные природные соединения (сапропель, торф), синтетические продукты (ферменты, гормоны, антибиотики, адаптогены, антиоксиданты). Поиск новых путей оздоровления и повышения продуктивности сельскохозяйственных животных с помощью кормовых добавок при высоких требованиях к экологии мясных и молочных продуктов питания закономерно привел к увеличению объема исследований по применению в животноводстве водорастворимых щелочных солей природных гуминовых кислот - гуматов. Их экологическая безопасность и уникальная способность улучшать обменные процессы и повышать энергетику клеток весьма положительно проявляется на живых организмах. Многочисленными исследованиями российских и зарубежных ученых установлена высокая эффективность природных гуматов как биостимуляторов и иммуномодуляторов в животноводстве и ветеринарии. Накоплен обширный экспериментальный материал, доказывающий, что использование гуматов приводит к ускорению роста животных, снижению заболеваемости и падежа, повышению устойчивости организма к токсинам в кормах и сопротивляемости неблагоприятным условиям среды. Повышение с помощью гуматов экологической чистоты экосистемы «вода — почва — растение», а также оздоровление птиц, животных и рыб, в конечном счете приведет к

In the work, we present the results of the investigation of acute toxicity of bio humates obtained by the method vermicultivation on laboratory animals. In the diets of farm animals and Pets to fill in the missing nutrients in the past years, we had an extensive use of various feed additives. Among them, mineral (macro - and micronutrients), protein and fat supplements, vitamins, biostimulants, complex natural compounds (sapropel, peat), synthetic products (enzymes, hormones, antibiotics, adaptogens, antioxidants). The search for new ways of improvement and increase of efficiency of agricultural animals using feed additives with high demands on ecology of meat and dairy foods naturally led to increased studies on the use in livestock farming of water-soluble alkaline salts of natural humic acids - humates. Their environmental safety and the unique ability to improve metabolism and increase energy cells very positively manifested in living organisms. Numerous studies Russian and foreign scientists installed a high efficiency natural humates as biostimulators and immunomodulators in animal husbandry and veterinary medicine. Accumulated extensive experimental material, proving that the use of humates leads to faster growth of animals, reducing morbidity and mortality, increase the body's resistance to toxins in feed and resistance to adverse environmental conditions. Improving with the help of humates ecological purity of the ecosystems "water — soil — plant", as well as the health of birds, animals and fish will ultimately lead to strengthen health and to prolong human life as a consumer of agricultural products. Currently, the livestock market is intensively increasing the humates produced in Russia and abroad from brown coal, peat, sapropel. A special place among them has been occupied by the newest formulations because of a unique combination of safety, efficiency, and value, which, thanks to its amazing properties to increase

укреплению здоровья и увеличению продолжительности жизни человека как потребителя сельскохозяйственной продукции. В настоящее время животноводческий рынок интенсивно пополняется гуматами, производимыми в России и за рубежом из бурого угля, торфа, сапропеля. Особое место среди них по уникальному сочетанию безопасности, эффективности и стоимости занимают новейшие препаративные формы, которые благодаря своим удивительным свойствам увеличивают энергетику клетки, стимулируют процессы жизнедеятельности и усиливать полезное действие других веществ получили название энергены. Они безвредны для животных и человека, не обладают аллергизирующими, анафилактикогенным, тератогенным, эмбриотоксическим и канцерогенным свойствами при использовании в рекомендуемых дозах. Это позволяет создавать на их основе экологически чистые натуральные кормовые добавки и ветеринарные препараты для сельскохозяйственных животных, птиц, рыб, пушных зверей и домашних питомцев, а также профилактические и лечебные препараты для человека

Ключевые слова: ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ, ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ, БИОГУМАТЫ, ВЕРМИКУЛЬТИВИРОВАНИЕ

energy cells, stimulate vital processes and to enhance the beneficial effects of other substances called energine. They are harmless to animals and humans; do not have allergologic, anaphylactogenic, teratogenic, embryotoxic and carcinogenic properties when used in recommended doses. This allows you to create on their basis organic natural feed additives and veterinary medicines for agricultural animals, birds, fish, fur animals and Pets, and preventive and therapeutic drugs for humans

Keywords: ACUTE TOXICITY, LABORATORY ANIMALS, BIO HUMATES, VERMICULTIVATION

Огромное внимание в животноводстве, ветеринарии и медицине уделяется в последние десятилетия поиску природных экологически безопасных веществ, не уступающих по эффективности традиционным синтетическим химическим препаратам. Среди наиболее безопасных и одновременно наиболее эффективных веществ, перспективных для применения в этих отраслях, особое место занимают высокомолекулярные органические соединения природного происхождения - гуминовые кислоты, которые содержат в себе огромный заряд сохранения и развития жизни на планете.

Уже накопленные в огромном количестве и продолжая накапливаться в природе, гуминовые кислоты являются и восполняемым, и ископаемым источником энергии и жизни. Они содержатся в большом количестве в почве, определяя ее плодородие, буром угле, низинном торфе, сапропеле и некоторых типах сланцев. В природных процессах образуются в результате трансформации растительного опада, искусственно могут синтезироваться из лигнинов.

Образование и накопление гуминовых кислот в природе - это второй по масштабности после фотосинтеза процесс трансформации органического вещества в окружающей среде, вовлекающий около 20 гигатонн углерода в год и образующий один из самых обширных резервуаров органического углерода.

По сравнению с широко распространенными природными ископаемыми органическими веществами (газом, нефтью, углем), применяемыми в энергетике, гуминовые кислоты имеют более сложное строение и участвуют в процессах жизнеобеспечения, играя предназначенную им природой уникальную, ничем не заменимую роль в отношениях между живой и неживой материей.

Наука сравнительно недавно получила инструментальные средства для изучения их молекулярного строения и свойств. В связи с этим во всем мире повысился интерес к их огромным, но пока еще практически не используемым природным запасам. Пока наука и практика сосредоточились на возможностях использования гуминовых кислот в растениеводстве, животноводстве, ветеринарии, почвоведении, медицине, а также для связывания вредных веществ и детоксикации. Однако нет сомнения, что в будущем люди найдут полезное применение гуминовым кислотам во многих сферах своей деятельности.

Гумусовые вещества - один из фундаментальных органических продуктов природы, который оказывает огромное влияние на поддержание и развитие жизни на нашей планете. В биосфере они выполняют разнообразные функции, важнейшими из которых являются аккумулятивная, транспортная, регуляторная, протекторная и физиологическая [3].

Сложность, разнообразие и непостоянство гуминовых веществ обуславливает наличие множества попыток описания их химической структуры. Насчитывается не один десяток формул, часть которых имеет характер

блок-схем, и только часть более или менее реально отражает их состав и свойства [1]. Точных описаний структурных формул гуминовых кислот не существует, а все предложенные варианты являются гипотетическими, поскольку учитывают только состав и некоторые их свойства, тогда как взаимное расположение атомов и атомных групп точно не установлено.

Проблема повышения продуктивности сельскохозяйственных животных является одной из наиболее значимых для ветеринарии в целом и ветеринарной фармакологии в частности. Ее актуальность определяется тем, что в современном животноводстве существует парадокс - селекционно «запрограммированные» на максимальную продуктивность животные оказались чрезмерно подверженными влиянию антропо-техногенных и биологических отрицательных факторов, результатом чего является снижение их продуктивности, наносящее в масштабах животноводческой промышленности существенный ущерб [2;4].

Основными способами решения проблемы повышения продуктивности являются технологические и зоогигиенические мероприятия, включая применение дорогостоящих высокопитательных кормовых рационов, а также использование различных лекарственных препаратов [7]. В классической ветеринарной фармакологии не существует группы «средства для повышения продуктивности», к данной категории относят стимуляторы роста, иммуно-модуляторы, адаптогены, витамины, антиоксиданты и другие препараты, обладающие анаболическим действием, нормализующие обмен веществ и повышающие общую неспецифическую резистентность организма [5]. Однако анализ оптимальности соотношения эффективности и безопасности вышеперечисленных групп препаратов показывает, что многие из них не отвечают данному требованию. Так, например, в настоящее время пересматривается позиция в отношении применения стимуляторов роста, особенно гормональной природы (эстрогены, соматотропин, анабо-

лические стероиды) и кормовых антибиотиков, являющихся достаточно эффективными, однако способными кумулировать и попадать в организм человека с продуктами животноводства, что является основным препятствием к их использованию [6;7].

Перспективным является изучение возможности применения препаратов содержащих гуминовые вещества для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных [7]. Гуминовые вещества являются высокомолекулярными соединениями, образующимися в процессе деградации растительного лигнина в почвах, торфах, углях и других природных объектах, составляя неотъемлемую часть системы круговорота органического вещества биосферы [3;4]. Известно, что данный класс соединений обладает ярко выраженной биологической активностью, проявляя антиоксидантные, иммуностимулирующие, адаптогенные, дезинтоксикационные и другие свойства [6].

Тем не менее, анализ литературных данных показывает, что основной объем исследований посвящен изучению влияния гуминовых соединений на организм растений, бактерий и состояние почвы, а ведущим направлением практического применения является использование гуматов в качестве удобрений [5;1]. В настоящее время фармакологические свойства гуминовых соединений изучены недостаточно, и, несмотря на наличие ряда препаратов, содержащих данные вещества, в животноводстве они практически не применяются.

В связи с вышеизложенным перспективным является изучение фармакологических свойств гуминовых препаратов, полученных из различных сырьевых источников, и сравнительная оценка их эффективности в качестве средств для повышения резистентности и продуктивности сельскохозяйственных животных.

Острая токсичность. Основной задачей исследований по острой токсичности биогумата явилось определение величин возможных летальных и токсических доз для лабораторных животных и изучение его токсического действия на органы и ткани при однократном применении.

Оценку острой токсичности проводили в остром опыте на белых беспородных крысах по методике Deishmann и Le Blanc (1943). С этой целью было использовано 16 белых крыс со средней массой тела $185 \pm 7,0$ г.

Животных сформировали в две группы и поместили в специальные отдельные клетки за четверо суток до начала эксперимента для адаптации. В опыт отбирали здоровых животных, группы формировали по принципу аналогов, используя в качестве критерия массу тела (различия по средней массе животных не превышали 5-10%).

Лабораторные крысы содержались в условиях вивария ГНУ КНИВИ в стандартных клетках на подстилке из опилок лиственных пород деревьев в соответствии с правилами группового содержания. Температура воздуха поддерживалась в пределах $20-25^{\circ}\text{C}$, относительная влажность – 45-60%.

В подготовительный период подопытным животным было обеспечено полноценное двухразовое питание, включающее в себя зерносмесь, состоящую из пшеницы, риса, ячменя, семян подсолнечника, белый и ржаной хлеб, морковь, капусту, яблоки и неограниченный доступ к воде. Кормление животных было прекращено за 12 часов до введения премикса, поение – за 4 часа до начала эксперимента.

Наблюдение за крысами проводили непрерывно на протяжении первого дня после скармливания препарата. В последующем состояние животных отмечали дважды в сутки в течение 14 дней.

Критериями оценки острой токсичности на лабораторных крысах явилось: возможное число павших животных и сроки гибели, клиническая

картина интоксикации, поведенческие реакции и аутопсия павших и умерщвленных в конце опыта животных (макроскопическая оценка).

Поэтому в ходе эксперимента регулярно учитывали:

- общее состояние животных;
- особенности их поведения;
- интенсивность и характер двигательной активности;
- координации движений;
- тонус скелетных мышц;
- реакцию на тактильные,
- болевые, звуковые и световые раздражители;
- частоту и глубину дыхательных движений;
- ритм сердечных сокращений;
- состояние волосяного и кожного покрова;
- окраску слизистых оболочек;
- размер зрачка;
- положение хвоста;
- количество и консистенцию фекальных масс;
- частоту мочеиспускания и окраску мочи;
- потребление корма и воды;
- изменение массы тела.

Исследуемый образец препарата подмешивался к яично-маслянной смеси и задавался белым крысам в дозах от 0,42 г/кг до 7,1 г/кг, пользуясь шкалой интервалов, составленной авторами метода в виде желточно-маслянных шариков. Контрольным животным в тех же объемах скармливали только яично-маслянную смесь.

Результаты опытов представлены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1 – ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ БИОГУМАТА ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

№	Масса тела, г	Доза, г/кг массы тела	Доза, г/животное	Эффект
1	187	0,42	0,08	Все животные выжили, гибели и острой интоксикации не наблюдали
2	192	0,62	0,12	
3	180	0,94	0,17	
4	185	1,4	0,26	
5	190	2,1	0,40	
6	193	3,2	0,62	
7	184	4,7	0,86	
8	188	7,1	1,33	

Результатами проведенных исследований установлено отсутствие гибели и острой интоксикации лабораторных животных при однократном введении биогумата в диапазоне доз от 420 до 7100 мг/кг массы тела.

По всем изучаемым показателям - общему состоянию, внешнему виду, поведенческим реакциям, степени возбудимости, уровню двигательной активности, шерстному покрову, состоянию слизистых оболочек и величине зрачка, отношению к воде и пище, подвижности, ритму и частоте дыхания подопытные белые крысы не имели отличий от контрольных за весь период наблюдений (14 дней).

На основании результатов исследования среднесмертельную дозу (LD_{50}) для препарата определить не удалось, поскольку при всех испытуемых дозах гибели опытных животных зарегистрировано не было.

Учитывая, что введение исследуемого образца в дозе 7100 мг/кг переносится животными без видимых последствий, он классифицируется как препарат малотоксичный и по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» относится к 4-му классу опасности (малоопасные вещества).

Список литературы

1. Борисенко В.В., Жолобова И.С. Изучение влияния обогащенного биогумата «ЭКОСС» на работу фотосинтетического комплекса растений редиса / Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2015. № 107 (03)
2. Борисенко В.В., Хусид С.Б. Изучение влияния обогащенного биогумата «ЭКОСС» на продуктивность овощных культур / Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2015. № 107 (03)
3. Гладков О. Производство гуминовых удобрений приобретает индустриальные масштабы / О. Гладков // Журнал химии. 2003. - С. 33-37.
4. Демин В. В. Вероятный механизм действия гуминовых веществ на живые клетки / В. В. Демин и др. // IV съезд Докучаевского общества почвоведов, Новосибирск, 9-13 августа 2004 г.: сб. науч. тр. — Новосибирск: Изд-во Наука-центр, 2004. С. 494.
5. Ермаков Е. И. Развитие представлений о влиянии гуминовых веществ на метаболизм и продуктивность растений / Е. И. Ермаков, А. И. Попов // Вестн. Рос. акад. с.-х. наук. 2003. - № 2. - С. 16-20.
6. Ермаков Е. И. Некорневая обработка растений гуминовыми веществами, как экологически гармоничная корректировка продуктивности и устойчивости агроэкосистем / Е. И. Ермаков, А. И. Попов // Вестн. Рос. акад. с.-х. наук. 2003. - № 4. - С. 7-11.
7. Оценка острой токсичности и раздражающего действия пробиотической кормовой добавки «Промомикс С» / А. И. Петенко, А. А. Ширина, Ю. А. Лысенко, Е. В. Якубенко, И. А. Петенко // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 4. – С. 12–14.

References

1. Borisenko V.V., Zholobova I.S. Izuchenie vlijaniya obogashhennogo biogumata «JeKOSS» na rabotu fotosinteticheskogo kompleksa rastenij redisa / Politematicheskij setevoy jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2015. № 107 (03)
2. Borisenko V.V., Husid S.B. Izuchenie vlijaniya obogashhennogo biogumata «JeKOSS» na produktivnost' ovoshhnyh kul'tur / Politematicheskij setevoy jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2015. № 107 (03)
3. Gladkov O. Proizvodstvo guminovyh udobrenij priobretaet industrial'nye masshtaby / O. Gladkov // Zhurnal himii. 2003. - S. 33-37.
4. Demin V. V. Veroyatnyj mehanizm dejstvija guminovyh veshhestv na zhivye kletki / V. V. Demin i dr. // IV s#ezd Dokuchaevskogo obshhestva pochvovedov, Novosibirsk, 9-13 avgusta 2004 g.: sb. nauch. tr. — Novosibirsk: Izd-vo Nauka-centr, 2004. S. 494.
5. Ermakov E. I. Razvitie predstavlenij o vlijanii guminovyh veshhestv na metabolizm i produktivnost' rastenij / E. I. Ermakov, A. I. Popov // Vestn. Ros. akad. s.-h. nauk. 2003. - № 2. - S. 16-20.
6. Ermakov E. I. Nekornevaja obrabotka rastenij guminovymi veshhestvami, kak jekologicheski garmonichnaja korrektirovka produktivnosti i ustojchivosti agrojekosistem / E. I. Ermakov, A. I. Popov // Vestn. Ros. akad. s.-h. nauk. 2003. - № 4. - S. 7-11.
7. Ocenka ostroj toksichnosti i razdrzhajushhego dejstvija probioticheskoj kormovoj dobavki «Promomiks S» / A. I. Petenko, A. A. Shirina, Ju. A. Lysenko, E. V. Jakubenko, I. A. Petenko // Veterinarija Kubani. - 2013. - № 4. - S. 12-14.