

УДК: 636.5/.6:637.5/57

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.115

## ТОКСИЧНОСТЬ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ТЕСТ-ОБЪЕКТА *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

Капитонова Е.А. \* – д. биол. н., профессор, Власенко Е.В. – маг. вет. н., аспирант

УО ВГАВМ, Витебск, Беларусь

\*kapitonovalena1110@mail.ru

**Ключевые слова:** токсичность, *in vitro*, тест-объект, простейшие, *Tetrahymena pyriformis*, кормовые добавки.

**Keywords:** toxicity, *in vitro*, test object, protozoa, *Tetrahymena pyriformis*, feed additives.

Поступила: 06.04.2023

Принята к публикации: 10.05.2023

Опубликована онлайн: 29.06.2023



### РЕФЕРАТ

Для компенсации недостатка минеральных веществ в корме, животноводы дополнительно используют различные источники макро- и микроэлементов, в том числе медьсодержащие компоненты.

Целью нашей научно-исследовательской работы явилось применение *in vitro* методики по определению токсичности кормовых добавок тест-объектом *Tetrahymena pyriformis*. Биотестирование проводилось в НИИ ПВМиБ УО ВГАВМ руководствуясь ГОСТ 13496.7-97, ГОСТ 31674-2012 и «Методическими рекомендациями по ускоренному определению токсичности и безвредности кормов и кормовых добавок с использованием тест-объекта *Tetrahymena pyriformis*».

Перед началом оценки общей токсичности нами было проведено исследование базового премикса комбикорма для цыплят-бройлеров. Исследование каждой пробы проводили 3 раза. После получения результатов, в комбикорм были внесены различные медьсодержащие добавки из расчета – 2,0 %. Далее нами была повторно проведена трехкратная токсикологическая экспертиза. Для получения объективных эмпирических данных, каждый испытуемый образец медьсодержащих добавок (название и фирма-производитель) нами был зашифрован.

Нами были проведены исследования на простейших пяти кормовых добавок из расчета 2,0 %. На основании проведенных лабораторных испытаний *in vitro* установлено, что гибель простейших, а также изменение формы и характера движения *Tetrahymena pyriformis*, в представленных пяти образцах, находились на уровне – 46,2-30,5 %, что указывает на среднюю степень токсичности медьсодержащих добавок. Медьсодержащие кормовые добавки могут быть использованы для дальнейшей научно-исследовательской работы, в частности в рационах для лабораторных и сельскохозяйственных животных, с учетом их строгого нормирования в рационе.

## ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Обеспечение продовольственной безопасности страны, в частности развития отрасли животноводства, невозможно представить без поддержки и взаимосвязи с отраслью растениеводства, как безопасного и бесперебойного источника кормов [1, 2]. В настоящее время к кормовой базе, предназначенной для сельскохозяйственных животных, предъявляются более высокие требования к качеству производимых компонентов рациона. Введение в рацион различных кормовых добавок способствует обеспечению сбалансированного питания, а, следовательно, повышению перевариваемости и усвоению ингредиентов комбикорма [3,4].

Для компенсации недостатка минеральных веществ в корме животноводы дополнительно используют различные источники макро- и микроэлементов. Это могут быть как минеральные добавки промышленного производства, так и естественные природные источники, либо отходы промышленности содержащие минеральные элементы. Наряду с обеспеченностью минеральных источников различными макро- и/или микроэлементами, необходимо учитывать их стоимость, затраты на приобретение, логистику и транспортировку, а также экономический эффект [5,6].

Однако, возможное их загрязнение разного рода ксенобиотиками делает необходимым тестирование каждой партии кормовых добавок *in vitro* на простейших. Лабораторными методами предусмотрено определение токсичности на таких тест-объектах как инфузории: тетрахимена пириформис, стилоухии и колподы.

Необходимо отметить основные преимущества проведения исследований *in vitro* на *Tetrahymena pyriformis*. Во-первых, изучение простейших производится в жидкой среде, что способствует воздействию на тест-объект не только изнутри (заглатывание и переваривание), но и снаружи (всасывании через

мембраны), в связи с чем ускоряется время воздействия возможных токсических веществ. Во-вторых, в течение одних суток возможна смена 2-4 поколений, что позволяет изучить генетическое воздействие изучаемых компонентов на тест-объект [7,8,9]. В-третьих, интенсивность обмена веществ уже в течение первых 30 минут демонстрирует реакцию, что позволяет одновременно изучать большое количество проб. Таким образом, использование *Tetrahymena pyriformis* дает возможность в течение 24 часов сделать предварительные выводы о безвредности изучаемых кормовых добавок.

В связи с вышеизложенным считаем, что наша научно-исследовательская работа актуальна, имеет научную новизну и практическую значимость.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ / MATERIALS AND METHOD

Целью нашей научно-исследовательской работы явилось применение *in vitro* методики по определению токсичности кормовых добавок тест-объектом *Tetrahymena pyriformis*.

Биотестирование различных медьсодержащих добавок проводили в Научно-исследовательском институте прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ руководствуясь ГОСТ 13496.7-97 «Зерно фуражное, продукты его переработки, комбикорма. Методы определения токсичности», ГОСТ 31674-2012 «Корма, комбикорма и комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности» и «Методическими рекомендациями по ускоренному определению токсичности и безвредности кормов и кормовых добавок с использованием тест-объекта *Tetrahymena pyriformis*».

Перед началом оценки общей токсичности нами было проведено исследование базового премикса комбикорма для цыплят-бройлеров. Исследование каждой пробы проводили 3 раза. После получения результатов, в комбикорм были внесены различные медьсодержащие добавки из расчета – 2,0 %. Далее нами была повторно проведена трехкратная токсикологическая экспертиза.

Для получения объективных эмпирических данных, каждый испытуемый образец медьсодержащих добавок (название и фирма-производитель) нами был зашифрован.

Оценку токсичности медьсодержащих кормовых добавок производили с учетом полученного коэффициента выживаемости *Tetrahymena pyriformis*. Коэффициент выживаемости тест-объекта рассчитывали по формуле:

$$K = \frac{S_2}{S_1} \times 100 \%$$

где:  $S_1$  – количество инфузорий в капле до внесения в экстракт;

$S_2$  – количество инфузорий в капле после внесения в экстракт с учетом экспозиции.

Препараты микроскопировали при увеличении 7x10 и подсчитывали эффект биопробы с учетом таких показателей как наличие живых и погибших простейших, а также изменение их формы и характера движения. По окончании проведения исследований нами был оформлен акт экспертизы.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В лаборатории научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ нами было изучено *in vitro* 5 медьсодержащих кормовых добавок с использованием тест-объекта *Tetrahymena pyriformis*. Результаты исследований представлены в таблице.

Таблица 1

#### Определение общей токсичности с использованием тест-объекта *Tetrahymena pyriformis*

Идентификационный номер образца	Наименование образца	Количество инфузорий					
		до внесения, $S_1$			экспозиция 60 мин., $S_2$		
		№ пробирки					
		1	2	3	1	2	3
02.143.01 -2021	Премикс №1 (ввод 2,0 %)	24	18	27	13	14	10
		Среднее $S_1$ – 23			Среднее $S_2$ – 12,3		
02.143.02 -2021	Премикс №2 (ввод 2,0 %)	21	19	23	10	12	12
		Среднее $S_1$ – 21			Среднее $S_2$ – 11,3		
02.143.03 -2021	Премикс №3 (ввод 2,0 %)	20	19	23	12	14	12
		Среднее $S_1$ – 20,6			Среднее $S_2$ – 12,6		
02.143.04 -2021	Премикс №4 (ввод 2,0 %)	21	19	23	12	14	12
		Среднее $S_1$ – 21			Среднее $S_2$ – 12,6		
02.143.05 -2021	Премикс №5 (ввод 2,0 %)	21	19	23	14	16	14
		Среднее $S_1$ – 21			Среднее $S_2$ – 14,6		

Как видно из представленных в таблице данных, медьсодержащие кормовые добавки, при экспозиции 1 час в увеличенной норме ввода, проявили угнетение по отношению к тест-объектам. Нами были обнаружены не подвижные инфузории, а также имеющие признаки разрушения клетки. Изменение формы и характера движения *Tetrahymena pyriformis* во всех опытных группах – не установлено.

Результаты расчета коэффициента выживаемости тест-объекта *Tetrahymena pyriformis* в пяти пробах при трех-

кратном вычислении представлены на рисунке.

Как видно из графического материала, коэффициент выживаемости тест-объекта, во всех медьсодержащих кормовых добавках, которые вводились из расчета 2,0 %, находился на уровне 53,5-69,5 %.

Гибель простейших, а также изменение формы и характера движения *Tetrahymena pyriformis*, в представленных пяти образцах, находились на уровне – 46,2-30,5 %, что указывает на среднюю степень токсичности медьсодержащих добавок.

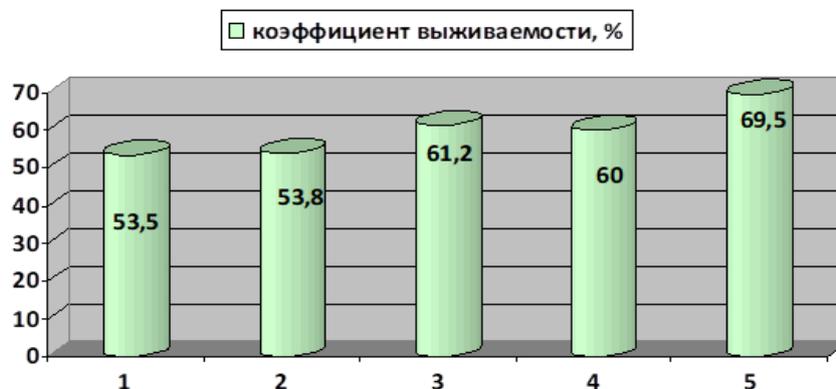


Рис. 1 Коэффициент выживаемости *Tetrahymena pyriformis*, %

#### ОБСУЖДЕНИЕ/ DISCUSSION

Металлы меди являются ядовитыми не только для бактерий, но и для ферментов. В связи с чем, ионы меди при повышенных нормах ввода, могут денатурировать ферменты целевой клетки, привязываясь к реактивным группам и вызывая их осаждение или деактивацию. Таким образом, избыточное введение в рацион медьсодержащих компонентов корма обладает олигодинамическим эффектом и может приводить к гиперкупорозам сельскохозяйственных животных.

Известно, что избыток меди может приводить к таким негативным последствиям как медный токсикоз, некроз клеток печени, гемолиз эритроцитов, отравлении организма, а при хроническом течении болезни к смерти от печеночной комы.

Осознавая, что неконтролируемое введение меди в рационах сельскохозяйственных животных, в том числе и птиц, может даже в малых дозах приводить к негативным последствиям, рекомендуем учитывать ее содержание в различных компонентах кормосмеси, а также строго дозировать ее введение в премиксах.

#### ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании проведенных лабораторных испытаний *in vitro* установлено, что представленные образцы медьсо-

держащих кормовых добавок, обладают слабой степенью токсичности для тест-объекта инфузории *Tetrahymena pyriformis*. Испытанные медьсодержащие кормовые добавки могут быть использованы для дальнейшей научной исследовательской работы, в частности в рационах для лабораторных и сельскохозяйственных животных, с учетом строгого нормирования их в рационе.

#### PRACTICE OF USING PROTOST

**Kapitonova E.A.** \* – Doctor of Biological Sciences, Professor (Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus). **Vlasenko E.V.** – Master of Veterinary Sciences, PhD student, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus)

\*kapitonovalena1110@mail.ru

#### ABSTRACT

To compensate for the lack of minerals in the feed, livestock breeders additionally use various sources of macro- and microelements, including copper-containing components. The aim of our research work was the use of an *in vitro* method for determining the toxicity of feed additives using the test object *Tetrahymena pyriformis*. Biotesting was carried out at the Research Institute PVMiB UO VGAVM guided by GOST 13496.7-97, GOST 31674-2012 and "Methodological recommendations for the accelerated deter-

mination of the toxicity and safety of feed and feed additives using the test object *Tetrahymena pyriformis*". Before starting the assessment of general toxicity, we conducted a study of the basic feed premix for broiler chickens. Each sample was studied 3 times. After receiving the results, various copper-containing additives were added to the compound feed at the rate of 2.0%. Then we repeated a threefold toxicological examination.

To obtain objective empirical data, each test sample of copper-containing additives (name and manufacturer) was encrypted by us. We have conducted studies on the simplest five feed additives at the rate of 2.0%. Based on *in vitro* laboratory tests, it was found that the death of protozoa, as well as a change in the shape and nature of the movement of *Tetrahymena pyriformis*, in the five samples presented, were at the level of 46.2-30.5%, which indicates an average degree of toxicity of copper-containing additives. Copper-containing feed additives can be used for further research work, in particular, in diets for laboratory and farm animals, taking into account their strict rationing in the diet.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гласкович, М. А. Анализ повышения эффективности использования кормовой базы на птицефабриках Республики Беларусь / М. А. Гласкович, Е. А. Капитонова // Ученые записки УО ВГАВМ : научно-практический журнал. - Витебск : УО ВГАВМ, 2011. - Т. 47, вып. 1. - С. 333-335.

2. Опыт корректировки рационов цыплят-бройлеров в условиях птицефабрик республики Беларусь / М.А. Гласкович, Л.Ю. Карпенко, А.Б. Балыкина [и др.]. - Научно-производственный журнал «Международный вестник ветеринарии». - ФГБОУ ВПО СПбГАВМ, 2018. - № 1 - С. 33-40.

3. Голушко, В.М. Сравнительный анализ применения биологически активных препаратов и их влияние на качество животноводческой продукции / Голушко В.М., Капитонова Е.А. // Ученые записки учреждения образования «Витебская орден «Знак Почета» государственная ака-

демия ветеринарной медицины», 2008. - Т. 44. - № 2-1. - С. 174-177.

4. Кочиш, И.И. Эффективность цеолитсодержащих добавок в бройлерном птицеводстве / И.И. Кочиш, Е.А. Капитонова, В.Н. Никулин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета, 2020. - № 3 (83). - С. 329-334.

5. Капитонова, Е.А. Продуктивность цыплят-бройлеров при введении в рацион адсорбента микотоксинов / Капитонова Е.А., Медведский В.А. // Ученые записки учреждения образования «Витебская орден «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2010. - Т. 46. - № 1-2. - С. 136-139.

6. Микрофлора кишечника цыплят-бройлеров и ее коррекция биологически активными препаратами / Красочко П.А., Голушко В.М., Капитонова Е.А., Гласкович А.А. // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2009. - Т. 75. - С. 393-398.

7. Беренев, Ю. Е. Биотестирование водных вытяжек отходов как метод определения класса опасности / Ю. Е. Беренев, И. А. Махнин // Материалы 77-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной 80-летию прорыва блокады Ленинграда, Санкт-Петербург, 03-10 апреля 2023 года. - Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. - С. 21-23. - EDN EDDGCB.

8. Карпенко, Л. Ю. Влияние высоких концентраций тяжелых металлов на целостность эпителия кишечника карпа / Л. Ю. Карпенко, П. А. Полистовская, А. И. Козицына // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. - 2022. - № 1. - С. 58-61. - DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.1.58. - EDN NIWKJB.

9. Изменение Структуры жаберного аппарата *Surginus sagrio* под воздействием свинца и меди / Л. Ю. Карпенко, П. А. Полистовская, А. И. Козицына, К. П. Иванова // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. - 2022. - № 2. - С. 93-96. - DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.2.93. - EDN JZOIQR.

**REFERENCES**

1. Glaskovich, M. A. Kapitonova, E. A. Analysis of increasing the efficiency of fodder use at poultry farms of the Republic of Belarus // *Uchenye zapiski UO VGAVM: scientific and practical journal*. - Vitebsk: UO VGAVM, 2011. - T. 47, issue. 1. - P. 333-335. (In Russ.)
2. Experience in adjusting the diets of broiler chickens in the conditions of poultry farms in the Republic of Belarus / M.A. Glaskovich, L.Yu. Karpenko, A.B. Balykina [i dr.]. - Scientific and production journal "International Bulletin of Veterinary Medicine". - FGBOU VPO SPbGAVM, 2018. - No. 1 - P. 33-40. (In Russ.)
3. Golushko, V.M. Comparative analysis of the use of biologically active drugs and their impact on the quality of livestock products / Golushko V.M., Kapitonova E.A. // *Scientific notes of the educational institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine*, 2008. - T. 44. - No. 2-1. - P. 174-177. (In Russ.)
4. Kochish, I.I. The effectiveness of zeolite-containing additives in broiler poultry farming / I.I. Kochish, E.A. Kapitonova, V.N. Nikulin // *Proceedings of the Orenburg State Agrarian University*, 2020. - No. 3 (83). - P. 329-334. (In Russ.)
5. Kapitonova E.A. Productivity of broiler chickens with the introduction of mycotoxin adsorbent into the diet / Kapitonova E.A., Medvedsky V.A. // *Scientific notes of the educational institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine*, 2010. - T. 46. - No. 1-2. - P. 136-139. (In Russ.)
6. Intestinal microflora of broiler chickens and its correction with biologically active preparations / Krasochko P.A., Golushko V.M., Kapitonova E.A., Glaskovich A.A. // *Proceedings of the All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine*. Ya.R. Kovalenko, 2009. - T. 75. - P. 393-398. (In Russ.)
7. Berenev, Yu. E. Biotesting of waste water extracts as a method for determining the hazard class / Yu. E. Berenev, I. A. Makhnin // *Proceedings of the 77th international scientific conference of young scientists and students of St. Leningrad, St. Petersburg, April 03–10, 2023*. - St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. - P. 21-23. - EDN EDDGCB. (In Russ.)
8. Karpenko, L. Yu. Influence of high concentrations of heavy metals on the integrity of the carp intestinal epithelium / L. Yu. Karpenko, P. A. Polistovskaya, A. I. Kozitsyna // *Legal regulation in veterinary medicine*. - 2022. - No. 1. - P. 58-61. - DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.1.58. - EDN NIWKJB. (In Russ.)
9. Karpenko L. Yu., Polistovskaya P. A., Kozitsyna A. I., Ivanova K. P. Changes in the structure of the gill apparatus of *Cyprinus carpio* under the influence of lead and copper // *Legal regulation in veterinary medicine*. - 2022. - No. 2. - P. 93-96. - DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.2.93. - EDN JZUIQR. (In Russ.)