

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 5

Issue 4

Különszám

Gödöllő
2009



KÜLÖNBÖZŐ DÓZISÚ T-2 ÉS HT-2 TOXIN ADAGOLÁSÁNAK HATÁSA A NEVELÉSI IDŐSZAKBAN BROILEREKNÉL

Weber Mária¹ – Balogh Krisztián^{2,3} – Fodor Judit³ – Erdélyi Márta² – Ancsin Zsolt² – Mézes Miklós²

¹Állatnemesítési, Sertés-, baromfi- és Hobbiállattenyésztési Tanszék, Szent István Egyetem, Gödöllő

²Takarmányozástani Tanszék, Szent István Egyetem, Gödöllő

³Állattenyésztési- és Higiéniai Kutatócsoport, Állattenyésztés-tudományi Kar, Kaposvári Egyetem, Kaposvár

weber.maria@mkk.szie.hu

Összefoglaló

T-2 és HT-2 toxinnal eltérő mértékben szennyezett indító (0-21 nap: 1,04 mg T-2 és 0,49 mg HT-2 /tak. kg) és befejező (22-39 nap: 0,12 mg T-2 és 0,02 mg HT-2 /tak. kg) takarmányok hatását vizsgáltuk broilerekén. Az állatokat két csoportra osztottuk: kontroll és toxinnal szennyezett takarmányozásban részesültek. A 21. és a 39. napon történtek mintavételek (vér, szövet) az állatok exterminálását követően a patológiai tünetek megfigyelésével. A testtömegmérések hetente történtek. A vér- és szövetmintákból malondialdehid- és, redukált glutation tartalmat, továbbá glutation-peroxidáz aktivitást mértünk. A T-2 toxinnal terhelt csoportban a dózistól függő mértékben patológiai elváltozások voltak megfigyelhetőek. A toxinterhelt csoportban szignifikánsan alacsonyabb testtömeget mértünk a kontrollhoz képest a 21. napon. Megállapítható, hogy a teljes nevelési időszakra kiterjedő T-2 és HT-2 toxin terhelés negatívan hat az állatok növekedési paramétereire, továbbá a szervezet fiziológiai folyamatait sem hagyja érintetlenül.

Kulcsszavak: T-2 toxin, HT-2 toxin, lipidperoxidáció, antioxidáns rendszer, broiler



Effect of feeding diets contaminated with different doses of T-2 and HT-2 toxin during the growing period on broiler chicken

Abstract

The effect of feeding a diet contaminated with T-2 and HT-2 toxin using different doses in the starter (0-21 days: 1.04 mg T-2 toxin and 0.49 mg HT-2 toxin kg⁻¹ feed), and finisher diets (22-39 days: 0.12 mg T-2 toxin and 0.02 mg HT-2 toxin kg⁻¹ feed) was investigated on broiler chickens. Birds were divided into two groups fed with control and T-2 and HT-2 toxin contaminated diets. Pathological signs of toxicity were investigated, individual live weight was measured weekly. Five animals from each group were exterminated at the 21st and 39th days of treatment, when blood plasma, red blood cell and liver samples were taken, in which MDA and GSH concentration and glutathione-peroxidase activity were determined. Pathological signs were found in the mycotoxin challenged group with different rate of occurrence at the different dose level. Body weight of birds was significantly lower as an effect of feeding the toxin contaminated feed on day 21 as compared to the control. In conclusion it can be stated that the toxin exposure has long-term effects in broiler chickens.

Keywords: T-2 toxin, HT-2 toxin, lipid peroxidation, antioxidant system, broiler

Irodalmi áttekintés

A *Fusarium* gombák termelik a trichotecénvázas mikotoxinokat, amelyek igen fontos szerepet játszanak a gazdasági állatok takarmányozásában gyakori megjelenésük és igen eltérő hatásuk miatt. A trichotecénvázas mikotoxinok negatívan befolyásolják az állatok növekedését és fejlődését (Leeson *mtsai*, 1995), továbbá hatással van a szervezet antioxidáns státuszára (Mézses *mtsai*, 1998). A cikkben bemutatott kísérlet célja volt felmérni a T-2 toxin növekedésre, a lipidperoxidációra, és a glutation redox rendszerre kifejtett hosszú távú hatását a teljes nevelési időszak alatt broilerekénél.

Anyag és módszer

40 Hubbard hybrid kakással folytattuk le a kísérletet, napos kortól 39 napos korig két csoportban: kontroll (K) és T-2 toxin terhelésben részesült (T) (n=20). A takarmányok beltartalma megfelelt a magyar előírásoknak. A kontroll takarmánykeverékekben egyik fázisban (1-21 nap és 22-39 nap) sem volt kimutatható toxintartalom (<0,01 mg/kg tak.). A toxinterhelt csoport takarmánya az első fázisban 1,04 mg/kg T-2, és



0,49 mg/kg HT-2 toxint, a második fázisban pedig 0,12 mg T-2, továbbá 0,02 mg/kg HT-2 toxint tartalmazott. A toxin preparátumot acetonban oldottuk, majd a takarmányra permeteztük (100 ml/50 kg takarmány). A T-2 toxint *Fusarium sporotrichoides*-szel termeltették (NRRL 3229) *Fodor mtsai*, (2006) módszerével. (Extrakció és tisztítás Burmeister (1971)). A takarmányok toxintartalmát HPLC-technikával határoztuk meg.

A 7., 14., 21. és 35. napon mértük a testtömeget. A 21. és 39. napon csoportonként 5 egyedet extermináltunk. A vérmintákat felhasználásig +4 °C-on tároltuk, majd centrifugáltuk. A vörösvérsejtekből 1:9 arányú hemolizátumot készítettünk. A mintákat a vizsgálatokig -20 °C-on tároltuk. A malondialdehid (MDA) koncentrációt *Placer és mtsai* (1966.), illetve *Mihara és mtsai* (1980), a glutation-peroxidáz (GSHPx) aktivitást *Lawrence és Burk* (1976) módszere alapján határoztuk meg. A fehérjetartalmat biuret-reakcióval (*Weichselbaum*, 1948), illetve *Lowry és mtsai* (1951), a GSH koncentrációt *Sedlak és Lindsay* (1968) módszerével mértük. Az eredményeket a Statistica™ 4.0 (*Statsoft Inc.*, 1993) szoftverrel értékeltük.

Eredmények

A T-2 és a HT-2 toxin hatását a 21. és 39. napon végzett boncolások során vizsgáltuk, de a toxikus hatás a mikotoxinos takarmánnyal etetett csoportokban más-más mértékben és kiterjedtségben volt tapasztalható. A T-2 toxin által kiváltott patológiás elváltozások a szájüregben és a nyelven léziók formájában valamint vérzéses és gyulladásos tünetekként jelentek meg főként a vékonybél kezdeti szakaszán. A toxinnal szennyezett takarmányok hatására a testtömeg szignifikánsan csökkent a kezdeti szakasz végére (21. nap). A kísérlet második szakaszában, ahol a mikotoxint alacsonyabb koncentrációban alkalmaztuk, a T-2 toxinnal kezelt csoportban kompenzációs növekedést tapasztaltunk. A lipidperoxidációs folyamatok intenzitását jelző MDA-tartalom a vérplazmában és a máj homogenizátumban nem változott szignifikáns mértékben a T-2 és HT-2 toxinnal szennyezett takarmányok hatására. A vvs-hemolizátumban azonban a 21. napra szignifikánsan csökkent a T-2 toxinnal szennyezett takarmánnyal etetett csoportban a kontrollhoz képest. A GSH-tartalom a vérplazmában és a vvs-hemolizátumban szignifikáns változást mutatott alacsony és magas toxin tartalom hatására egyaránt. A 39. napon vett májmintákban a T-2 toxinos csoportban szignifikánsan alacsonyabb érték volt mérhető a kontrollhoz képest. A GSHPx-aktivitás nem mutatott szignifikáns eltérést a vérplazmában és a vvs-hemolizátumban a toxinnal szennyezett takarmányok hatására. A toxinnal szennyezett takarmánnyal etetett madarak esetén a máj homogenizátumban azonban szignifikánsan magasabb volt mindkét mintavételi időpontban (21. és 39. nap) a kontrollhoz képest (^{a,b} Szignifikáns különbség az egyes időpontokban mért értékek között (P < 0,05)).

**1. táblázat: MDA- és GSH tartalom, illetve GSHPx-aktivitás változása**

MDA-tartalom ⁴	Nap ⁷	Kontroll ⁸	T-2 toxin terhelt ⁹
Vérplazma ¹ ($\mu\text{mol/L}$)	21	6,3 \pm 2,88	2,62 \pm 0,34
	39	7,13 \pm 1,94	6,90 \pm 1,65
Vvs-hemolizátum ² ($\mu\text{mol/L}$)	21	7,92 \pm 0,78 ^a	6,44 \pm 0,59 ^b
	39	8,52 \pm 2,80	7,74 \pm 3,08
Máj-homogenizátum ³ ($\mu\text{mol/L}$)	21	3,46 \pm 0,85	3,02 \pm 0,55
	39	5,26 \pm 1,80	5,02 \pm 1,15
GSH-tartalom ⁵			
Vérplazma ¹ ($\mu\text{mol/L}$)	21	7,99 \pm 1,39	6,73 \pm 2,51
	39	6,44 \pm 1,51	6,99 \pm 0,88
Vvs-hemolizátum ² ($\mu\text{mol/L}$)	21	5,80 \pm 1,94	7,79 \pm 2,59
	39	6,60 \pm 1,51	6,53 \pm 1,44
Máj-homogenizátum ³ ($\mu\text{mol/L}$)	21	2,83 \pm 0,52 ^a	3,49 \pm 0,35 ^b
	39	1,91 \pm 0,39 ^a	2,49 \pm 0,63 ^b
GSHPx-aktivitás ⁶			
Vérplazma ¹ (E/g feh.)	21	6,29 \pm 1,28	5,18 \pm 2,07
	39	4,80 \pm 0,69	5,25 \pm 0,83
Vvs-hemolizátum ² (E/g feh.)	21	9,36 \pm 4,18	13,59 \pm 2,91
	39	10,33 \pm 1,82	10,73 \pm 2,43
Máj-homogenizátum ³ (E/g feh.)	21	2,56 \pm 0,60	3,00 \pm 0,66
	39	1,82 \pm 2,59 ^a	0,61 \pm 0,77 ^b

Table 1. Changes of MDA- and GSH-content and GSHPx-activity

¹Blood plasm, ²RBC-hemolysate, ³liver-homogenate, ⁴MDA-content, ⁵GSH-content, ⁶GSHPx-activity, ⁷day, ⁸control, ⁹T-2 toxin treated

Eredmények értékelése, következtetések

A kísérletek során T-2 és a HT-2 toxicitás klinikai tünetei azonosak voltak a korábban leírtakkal (Gentry, 1982). Az elváltozások mértéke a kísérlet második, jóval alacsonyabb mikotoxin tartalmú takarmány esetében csökkent, ami arra utal, hogy a nagy dózis hosszú távon hat, még abban az esetben is, ha jóval alacsonyabb toxin szennyezettség követi. Az élősúly esetén is hasonló hatást tapasztaltunk, azonban a kísérlet végére a két csoport közötti különbség már elhanyagolható volt. Ez részben a második szakasz alacsonyabb mikotoxin koncentrációjának, részben pedig a baromfifélék jól ismert kompenzációs növekedési képességének az eredménye. A lipidperoxidáció és a glutation redox rendszer biokémiai markerei esetén tapasztalt változások összhangban vannak a Leal és mtsai (1999) által leírtakkal. Valószínűsíthető, hogy a májban bekövetkezett GSHPx aktiváció az enzim poszttranszlációs aktiválásának eredménye, ami a T-2 toxin jól ismert fehérjeszintézist gátló hatásának tudható be (Ueno mtsai, 1973). Az eredmények alátámasztják azt a feltétele-



zésünket, hogy a magas T-2 toxin szennyezettségű takarmányok a broilerekre hosszú távú hatást fejtenek ki még akkor is, ha a terhelést alacsonyabb terhelés követi. A lipidperoxidáció mértéke, ahogy az MDA-tartalom mérési eredményei mutatják, nem nőtt szignifikánsan, amely valószínűleg a glutation redox rendszer aktiválódásának köszönhető.

Irodalomjegyzék

- Burmeister, H.R.* (1971): T-2 production by *Fusarium tricinctum* on solid substrate. *Appl Microbiol* 21: 739-742.
- Fodor J., Németh M., Kametler L., Pósa R., Kovács M., Horn P.* (2006): Novel methods of *Fusarium* toxins' production for toxicological experiments. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 10: 277-285.
- Gentry, P.A.* (1982): The effect of administration of a single dose of T-2 toxin on blood coagulation parameters in the rabbit. *Can J Comp Med* 46: 414-419.
- Lawrence, R.A., Burk, R.F.* (1976): Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-956.
- Leeson, S., Diaz, G., Summers, J.D.* (1995): Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University Books, Guelph; pp.190-226.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.* (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265–275.
- Mézes M., Barta M., Nagy G.* (1998): Comparative investigation on the effect of T-2 mycotoxin on lipid peroxidation and antioxidant status in different poultry species. *Res Vet Sci* 66:19–23.
- Mihara, M., Uchiyama, M., Fukuzawa, K.* (1980): Thiobarbituric acid value of fresh homogenate of rat as parameter of lipid peroxidation in ageing, CCl₄ intoxication and vitamin E deficiency. *Biochem Med* 23: 302–311.
- Placer, Z.A., Cushman, L.L., Johnson, B.C.* (1966): Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 16: 359–364.
- Sedlak, I., Lindsay, R.H.* (1968): Estimation of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissues with Ellmann's reagent. *Anal Biochem* 25: 192-205.
- Ueno, Y., Nakajima, M., Sakai, K., Ishii, K., Sato, N., Shimada, N.* (1973): Comparative toxicity of trichothecene mycotoxins: Inhibition of protein synthesis in animal cells. *J Biochem* 74: 285-292.
- Weichselbaum, T.E.* (1948): An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of serum and plasma. *Am. J. Clin. Pathol.* 16: 40-43.