

## ВЛИЯНИЕ НА АФЛАТОКСИН В<sub>1</sub> ВЪРХУ РАСТЕЖА И СТОЙНОСТИТЕ НА ТРИЙОДТИРОНИНА, ТИРОКСИНА И ТИРЕОСТИМУЛИРАЦИЯ ХОРМОН ПРИ ПАТЕТА МЮЛАРИ

ИВАН ВЪЛЧЕВ, ЛАЗАРИН ЛАЗАРОВ, ЦАНКО ХРИСТОВ,  
ДИАН КАНЪКОВ, РУМЕН БИНЕВ, ЙОРДАН НИКОЛОВ  
Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет - Стара Загора

Афлатоксините са вторични токсични метаболити, продуцирани от плесенните гъбички от род *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* и *A. pseudotamarii*) (CAST, 2003). Те се установяват като естествени контаминанти на зърнените култури (Gugnani, 2000). Птиците са най-чувствителният животински вид към тези микотоксини (Robens and Richard, 1992), а измежду тях с най-висока чувствителност се отличават патиците (Ostrowski-Meissner, 1983). Афлатоксините са микотоксини, които най-често се установяват като контаминанти на царевича, пшеница, соя, сорго, сух боб, фъстъци и памучено семе. Най-често срещаните афлатоксини във фуражите за животни и хранителните продукти за хора (AFS) са AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> и AFG<sub>2</sub>. Афлатоксин В<sub>1</sub> е най-силно токсичен и най-често срещаният представител във фуражите за птици (FAO and WHO, 1997; CAST, 2003). Установено е, че количество на AFB<sub>1</sub> в естествено контаминираните зърнени храни е 75% от общото количество на всички афлатоксини (Saad, 1993). Афлатоксините, освен като контаминанти на фуражите за животни, се установяват и в хранителните продукти от животински произход (мляко, яйца и месо) (Giray et al., 2007). Оптималните условия на околната среда за растеж и токсинообразуване на плесенните гъбички от род *Aspergillus* са температура 25 – 32°C (Lillehoj, 1983) и 61 – 91% относителна влажност (Moss, 1991). Според законодателството на Европейския съюз (ЕС) и Американската агенция по храни и лекар-

ства (FDA) общото количество на афлатоксини във фуражите за подрастващите птици не трябва да надвишава 20 ppb при пълноценните фуражи и по 0.005 ppb при допълващите фуражи (Наредба /10/2009; Directive 2002/32/EC; Zimmerman, 2002;). Тежестта на протичане на афлатоксикозата при птиците е в зависимост от редица фактори като: вида и възрастта, количество на приетия токсин, продължителността на експозицията и количеството на протеините в дажбата (Kaya et al., 2002). Приемането на контаминирани с афлатоксини фуражи от домашните птици причинява редица вредни ефекти, като по-ниска жива маса, прираст, консумация на фураж, повишаване конверсията на фураж (Afzal and Saleem, 2004; Oguz et al., 2004; Teleb et al., 2004; Abosadi et al., 2007; Zao et al., 2010; Yildirim et al., 2011), промени в относителните тегла на вътрешните органи (Rosa et al., 2001; Teleb et al., 2004; Manafi et al., 2012), промени в морфологичната структура на черния дроб (Zao et al., 2010; Yildirim et al., 2011), бъбреците (Mohamed and Mohamed, 2009; Yildirim et al., 2011) и имунокомпетентните органи (тимус, бурза фабриции, далак) (Sakhare et al., 2007). Афлатоксините са силни имуносупресори, които понижават хуморалния и клетъчния имунитет (Ibrahim et al., 2000) и като резултат от това повишават чувствителността към бактериални, вирусни и протозойни заболявания (Qureshi et al., 1998; Shashidhara and Devegowda, 2003).

Отстраняването на афлатоксините от кон-

таминирани фуражи е основен проблем при търсенето на ефективни методи за деконтаминация. През последните години са проведени редица изследвания в търсенето на подходящи методи, свързани с минимализиране на загубите в птицевъдството, причинени от присъствието на афлатоксини в комбинирани фуражни смеси за птици. Предложените методи за намаляване на вредните ефекти на афлатоксините включват използването на плесенни инхибитори, микробна инактивация, физично сепариране, топлинно и химично инактивиране, смилане, както и използването хранителни добавки и микосорбенти (Yildiz, et al., 2004). Повечето от тези методи са скъпи, отнемат много време и са непрактични, неефективни и потенциално опасни. Най-популярният метод в настоящия момент (поради лесната му приложимост) е използването на неорганични абсорбенти. Те притежават способността да се свързват с афлатоксините и по този начин да намаляват абсорбцията им от стомашно-чревния тракт.

Целта на настоящото проучване бе да се определи ефектът на афлатоксин  $B_1$  самостоятелно и в комбинация с Mucotox NG върху продуктивните показатели, относителните тегла на вътрешните органи и стойностите на някои хормони ( $T_3$ ,  $T_4$  и TSH).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За реализиране на целта беше осъществен експеримент с 80 броя десетдневни патета мюлари от женски пол. Патетата бяха разделени на четири групи, по 20 броя в групи.

Експериментът беше проведен по следната схема:

I група – контролна. Мюларите от тази група бяха хранени с балансирана фуражна смеска, съобразена с възрастта им, производство на фуражния завод Зоохранинвест – Стара Загора. Птиците бяха хранени с гранулирани смеси за стартер, гроуер и финишер.

II група – експериментална. Мюларите в нея получаваха със стандартната фуражна смеска 0.5 mg/kg фураж афлатоксин  $B_1$ .

III група – експериментална. Мюларите от

тази група получаваха със стандартната фуражна смеска и по 0.8 mg/kg фураж афлатоксин  $B_1$ .

IV група – експериментална. В нея мюларите получаваха със стандартната фуражна смеска и по 0.5 mg/kg фураж афлатоксин  $B_1$  и 2g/kg фураж Mucotox NG (Ceva Sante Animale, France).

Средната жива маса на мюларите преди началото на експеримента беше  $201.5 \pm 1.83$  g при I група,  $201.1 \pm 1.87$  g - при II група,  $202.3 \pm 2.03$  g - при III група и  $200.7 \pm 1.64$  g при - IV група.

Използваният в експеримента афлатоксин  $B_1$  е продуциран от *Aspergillus flavus* (99% чистота) и беше закупен от Sigma-Aldrich, Germany. При опитните групи мюлари, за по-добро размесване на афлатоксин  $B_1$  фуражът бе смлян. Осигурени бяха оптимални микроклиматични параметри, еднакви за всички групи съгласно **Наредба №44/2006** г. за ветеринарномедицинските изисквания към животновъдните обекти. Живата маса, среднодневната консумация на фураж, среднодневният прираст и конверсията на фураж бяха проследени на 14-ия, 28-ия и 42-ия ден **посредством тегловен метод**. Кръвните проби бяха получени от *v. metatarsalis medialis* на 21-ия и 42-ия ден след началото на експеримента с помощта на стерилни контейнери, съдържащи хепарин (FL medical, Italy) за определяне стойностите на трийодтиронина ( $T_3$ ), тироксина ( $T_4$ ) и тиреостимулиращия хормон (TSH). В рамките на 30 min след получаване на кръвта кръвните проби бяха центрофугирани в продължение на 10 min при 1500 оборота. Непосредствено след това пробите бяха отделени и бяха съхранявани при температура  $-20^\circ\text{C}$  до момента на анализа. Изследването на посочените хормони беше извършено с помощта на автоматичен анализатор Elecsys 2010 (Rohche Diagnostics), електролуминисцентен метод (ECLIA) и тестове на Rohche Diagnostics.

За определяне теглото на вътрешните органи (черен дроб, бъбреци, сърце, далак, тимус, бурза фабриции, панкреас, мускулест и жлезист стомах) птиците бяха умъртвени чрез пречупване на гръбначния стълб в областта на врата (цервикална дислокация) съгласно Наредба

№15 за минималните изисквания за защита и хуманно отношение към опитните животни и изисквания към обектите за използването, отглеждането и/или доставката им (обн. ДВ бр. 17/2006г.).

Експерименталните проучвания бяха извършени с одобрението на комисията по етика към Ветеринарномедицинския факултет на Тракийския университет (Разрешително No 42.10.10.2011).

Вариационно-статистическата обработка беше осъществена с еднофакторен модел на Anova, а статистическата достоверност беше определена с Tukey-Kramer test ( $P < 0.05$ ).

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Данни за ефекта от добавянето към фуражната смеска на AFB<sub>1</sub> и комбинирането на Mucotox NG и AFB<sub>1</sub> върху живата маса, среднодневната консумация на фураж, среднодневния прираст и конверсията на фураж при патетата мюлари в продължение на шест седмици са представени в табл. 1, 2, 3 и 4. От извършените биометрични изследвания бе установено, че в края на експерименталния период живата маса на патетата, хранени с фураж, съдържащ AFB<sub>1</sub> в концентрация 0.5 mg/kg (II експериментална група) е средно с 485 g по-ниска от тази при контролната група патета ( $P < 0.001$ ), (17.3%). При патетата, хранени с дажба, съдържаща 0.8 mg/kg фураж AFB<sub>1</sub> (III експериментална група) живата маса бе със 756 g по-ниска в сравнение с контролната група ( $P < 0.001$ ), (26.97%). В сравнение с контролната група патета, при патетата, получавали с фуража 0.5 или 0.8 mg/kg AFB<sub>1</sub>, се установяват достоверно по-ниски среднодневна консумация на фураж и среднодневен прираст в сравнение с контролната група ( $P < 0.001$ ). Среднодневната консумация на фураж в края на експеримента при патетата, получавали с фуражната смеска 0.5 или 0.8 mg/kg AFB<sub>1</sub> е съответно с 5.95% и 11.41% по-ниска в сравнение с контролната група. Среднодневният прираст на 42-ия ден при патетата, получавали с фуражната смеска с 0.5 или 0.8 mg/kg AFB<sub>1</sub> е съответно с 16.45% и 24.08% по-нисък в срав-

нение с контролната група. Разходът на фураж за единица прираст бе увеличен съответно с 12.74% и 17.97% ( $P < 0.05$ – $P < 0.001$ ) при II и III експериментални групи. При IV експериментална група добавянето към фуража, съдържащ 0.5 mg/kg AFB<sub>1</sub> на 2 g/kg фураж Mucotox NG се отразява благоприятно върху продуктивните показатели, като не се наблюдават статистически достоверни разлики с контролната група патета ( $P > 0.05$ ).

Данни за относителните тегла на вътрешните органи (g/100 g живо тегло) (черен дроб, бъбреци, сърце, бурза фабриции, тимус, далак, панкреас, мускулест и жлезист стомах) са представени в табл. 5. От нея се вижда, че в резултат на изхранването с фураж, контаминиран с нарастващи дози AFB<sub>1</sub> се предизвиква достоверно повишаване на относителните тегла на: черния дроб, бъбреците, сърцето, панкреаса, мускулестия и жлезистия стомах в сравнение с патетата, получавали стандартна фуражна смеска ( $P < 0.001$ ). Едновременно с това относителното тегло на тимуса, бурза фабриции и далака достоверно се понижава ( $P < 0.001$ ). Не бяха установени достоверни разлики в проследените относителни тегла между контролната група патета и патетата, получавали с фуража 0.5 mg/kg AFB<sub>1</sub> и 2 g/kg фураж Mucotox NG (IV опитна група) ( $P > 0.05$ ). Въпреки това относителното тегло на черния дроб остава недостоверно по-високо в сравнение с това при контролната група.

Промените в стойностите на хормоните са представени в табл. 6. В сравнение с контролната група стойностите на трийодтирониона (T<sub>3</sub>) и тироксина (T<sub>4</sub>) бяха статистически достоверно по-ниски при патетата от II и III група на 21-ия и 42-ия ден ( $P < 0.05$ – $P < 0.001$ ). При IV опитна група след комбиниране на AFB<sub>1</sub> с микосорбента Mucotox NG стойностите на T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub> показват като цяло по-ниски, но статистически недостоверни ( $P > 0.05$ ), стойности в сравнение с контролната група. Статистически достоверни промени в стойностите TSH между контролната и опитните групи не бяха установени ( $P > 0.05$ ).

Микотоксините постъпват в организма на бозайниците чрез приемане на контаминирани храни и фуражи и оказват своето токсично

Таблица 1. Влияние на афлатоксин В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) самостоятелно и в комбинация с Mycotox NG върху живото тегло на патета мюлари

Table 1. Effect of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) alone or combined with Mycotox NG on live body weight in mulard ducklings

Групи	Живо тегло, g				
	Начално тегло, g	14-ти ден	28-ми ден	42-ри ден	Разлика, %
I	201.5±1.83	707±19.26	1624±13.51	2804±21.09	100
II	201.1±1.87	585±10.13 <sup>1c</sup>	1333±14.14 <sup>1c</sup>	2319±22.97 <sup>1c</sup>	17.3
III	202.3±2.03	515±11.47 <sup>1c,2a</sup>	1152±29.62 <sup>1c,2c</sup>	2048±20.20 <sup>1c,2c</sup>	26.97
IV	200.7±1.64	714±17.96 <sup>2c,3c</sup>	1630±13.66 <sup>2c,3c</sup>	2807±28.52 <sup>2c,3c</sup>	0

Резултатите са представени като средни стойности (mean) ± стандартна грешка (SEM); n =20 патета във всяка група; <sup>a</sup>P<0.05; <sup>b</sup>P<0.01; <sup>c</sup>P<0.001; 1 – в сравнение с контролната група; 2 – в сравнение с I опитна група; 3 – в сравнение с II опитна група.

Таблица 2. Влияние на афлатоксин В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) самостоятелно и в комбинация с Mycotox NG върху среднодневната консумация на фураж при патета мюлари

Table 2. Effect of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) alone or combined with Mycotox NG on average daily feed intake in mulard ducklings

Групи	Среднодневна консумация на фураж, g			
	14-ти ден	28-ми ден	42-ри ден	Разлика, %
I	90.92±1.76	185.75±0.26	257.73±0.86	100
II	82.85±1.09 <sup>1c</sup>	177.65±0.69 <sup>1c</sup>	242.41±0.076 <sup>1c</sup>	5.95
III	72.33±1.08 <sup>1c,2c</sup>	171.20±1.51 <sup>1c,2c</sup>	228.34±0.096 <sup>1c,2c</sup>	11.41
IV	91.01±0.19 <sup>1c,2c</sup>	186.87±0.19 <sup>2c,3c</sup>	257.56±0.68 <sup>2c,3c</sup>	0

Резултатите са представени като средни стойности (mean) ± стандартна грешка (SEM); n =20 патета във всяка група; <sup>a</sup>P<0.05; <sup>b</sup>P<0.01; <sup>c</sup>P<0.001; 1 – в сравнение с контролната група; 2 – в сравнение с I опитна група; 3 – в сравнение с II опитна група.

Таблица 3. Влияние на афлатоксин В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) самостоятелно и в комбинация с Mycotox NG върху среднодневния прираст на патета мюлари

Table 3. Effect of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) alone or combined with Mycotox NG on average daily weight gain in mulard duckling

Групи	Среднодневен прираст, g			
	14-ти ден	28-ми ден	42-ри ден	Разлика, %
I	36.10±1.45	65.49±2.02	84.28±1.77	100
II	27.41±0.70 <sup>1c</sup>	53.42±1.34 <sup>1c</sup>	70.42±1.45 <sup>1c</sup>	16.45
III	11.31±0.81 <sup>1c,2a</sup>	45.49±2.21 <sup>1c,2a</sup>	63.99±2.42 <sup>1c,2c</sup>	24.08
IV	36.64±1.25 <sup>2c,3c</sup>	65.42±1.88 <sup>2c,3c</sup>	84.06±2.36 <sup>2c,3c</sup>	0

Резултатите са представени като средни стойности (mean) ± стандартна грешка (SEM); n =20 патета във всяка група; <sup>a</sup>P<0.05; <sup>b</sup>P<0.01; <sup>c</sup>P<0.001; 1 – в сравнение с контролната група; 2 – в сравнение с I опитна група; 3 – в сравнение с II опитна група.

Таблица 4. Влияние на афлатоксин В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) самостоятелно и в комбинация с Mycotox NG върху конверсията на фураж при патета мюлариTable 4. Effect of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) alone or combined with Mycotox NG on feed conversion in mulard ducklings

Групи	Конверсия на фураж, g фураж/g прираст			
	14-ти ден	28-ми ден	42-ри ден	Разлика, %
I	2.55±0.096	2.85±0.090	3.06±0.066	100
II	3.01±0.082 <sup>1c</sup>	3.35±0.088 <sup>1a</sup>	3.45±0.074 <sup>1a</sup>	12.74
III	3.27±0.098 <sup>1c</sup>	3.84±0.19 <sup>1c</sup>	3.61±0.13 <sup>1c</sup>	17.97
IV	2.50±0.080 <sup>2c,3c</sup>	2.87±0.083 <sup>2c,3c</sup>	3.08±0.088 <sup>2a,3b</sup>	0

Резултатите са представени като средни стойности (mean) ± стандартна грешка (SEM);  $n = 20$  патета във всяка група; <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; <sup>c</sup> $P < 0.001$ ; 1 – в сравнение с контролната група; 2 – в сравнение с I опитна група; 3 – в сравнение с II опитна група.

действие след абсорбция от храносмилателния тракт (D'Mello et al., 1997a). Те предизвикват различни вредни ефекти при животните в зависимост от концентрацията на токсините във фуражите, възрастта им и от хранителния и здравния им статус към момента на приема на контаминираните фуражи (D'Mello and Macdonald, 1997b). Микотоксините като цяло и афлатоксините в частност, нанасят значителни икономически загуби в птицевъдството (Afzal and Saleem, 2004). Най-значимият икономически ефект от афлатоксикозата при домашните птици е забавяне на растежа, намаляване консумацията на фураж и повишаване конверсията на фураж (Sharline et al., 1980; Afzal and Saleem, 2004; Oguz et al., 2004; Yildirim et al., 2011). Забавеният растеж при изхранване с фуражи, контаминирани с афлатоксини при пилета бройлери се дължи на намалено усвояване на енергия и протеини (Verma et al., 2002). Афлатоксините понижават абсорбцията на хранителните вещества и секрецията на панкреатични ензими (Osborne and Hamilton, 1981) и вследствие на това понижават апетита (Sharline et al., 1980). Според други автори (Verma et al., 2004) намаленият апетит при афлатоксикозата вероятно се дължи на нарушения чернодробен метаболизъм. Вредните ефекти на афлатоксините върху прираста, консумацията на фураж и конверсията на фураж са следствие от анорексията, инхибирането на

протеиновия синтез и липогенезата (Parlat et al., 2001). Нарушената чернодробна функция и намаленото усвояване на въглехидрати са механизмите, които влошават продуктивните показатели и общото здравословно състояние при птиците (Ortatatli and Oguz, 2001; Oguz and Parlat, 2004).

Черният дроб, бъбреците и органите от имунната система са органи мишени за токсичното действие на афлатоксините и те са първите, които се засягат при хранене с контаминирани фуражи (Ledoux et al., 1999). Нарастването на относителното тегло на мускулестия и жлезистия стомах, бъбреците, сърцето и панкреаса, е следствие от включването към фуража на нарастващи дози от AFB<sub>1</sub> и е потвърждение на предишни проучвания с пилета бройлери (Miazzo et al., 2005; Abosadi et al., 2007; Safamehr, 2008; Zao et al., 2010; Yildirim et al., 2011). Повишаването на относителното тегло на черния дроб и бъбреците е резултат от натрупването на мазнини в тези органи, вследствие от нарушения липиден метаболизъм (Miazzo et al., 2005). Повишаването на относителните тегла на жлезистия и мускулестия стомах е следствие от възпалението и удебеляването на лигавицата им. Тези промени са резултат от дразнещото действие на афлатоксините върху лигавицата на храносмилателния канал (Azarakhsh, et al., 2011). Тимусът, далакът и бурза фабрици са органите, отговорни

Таблица 5. Влияние на афлатоксин B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) самостоятелно и в комбинация с Mucotox NG върху относителното тегло на вътрешните органи (g/100g живо тегло) при патета мюлари

Table 5. Effect of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) alone or combined with Mucotox NG on relative visceral organ weights in mulard ducklings

Групи	Черен дроб	Бъбреци	Сърце	Бурза	Тимус	Далак	Панкреас	Жлезист стомаш	Мукулест стомаш
I	2.98± 0.044	0.54± 0.012	0.70± 0.018	0.126± 0.007	0.39± 0.010	0.127± 0.002	0.45± 0.038	1.17± 0.011	3.64± 0.027 <sup>1c</sup>
II	3.30± 0.035 <sup>1c</sup>	0.67± 0.011 <sup>1c</sup>	0.87± 0.016 <sup>1c</sup>	0.091± 0.001 <sup>1c</sup>	0.29± 0.005 <sup>1c</sup>	0.093± 0.001 <sup>1c</sup>	0.60± 0.011 <sup>1c</sup>	1.30± 0.011 <sup>1c</sup>	4.10± 0.034 <sup>1c</sup>
III	4.08± 0.048 <sup>1c,2b</sup>	0.78± 0.020 <sup>1c,2b</sup>	0.96± 0.015 <sup>1c,2b</sup>	0.086± 0.002 <sup>1c,2c</sup>	0.25± 0.007 <sup>1c,2a</sup>	0.075± 0.001 <sup>1c,2b</sup>	0.71± 0.60 <sup>1c,2b</sup>	1.41± 0.015 <sup>1c,2c</sup>	4.43± 0.055 <sup>1c,2c</sup>
IV	3.10± 0.032 <sup>2c,3c</sup>	0.59± 0.012 <sup>2c,3c</sup>	0.76± 0.012 <sup>2c,3c</sup>	0.074± 0.001 <sup>2c,3c</sup>	0.37± 0.042 <sup>2c,3c</sup>	0.115± 0.006 <sup>2c,3c</sup>	0.48± 0.012 <sup>3c,2b</sup>	1.21± 0.012 <sup>2c,3c</sup>	3.80± 0.047 <sup>2c,3c</sup>

Резултатите са представени като средни стойности (mean) ± стандартна грешка (SEM); n =20 патета във всяка група; <sup>a</sup>P<0.05; <sup>b</sup>P<0.01; <sup>c</sup>P<0.001; 1 – в сравнение с контролната група; 2 – в сравнение с I опитна група; 3 – в сравнение с II опитна група.

за хуморалния и клетъчния имунитет и като такива трябва да са функционално активни през целия живот на птиците (Sakhare et al., 2007). По-ниското относително тегло на тези органи при групите, третирани самостоятелно с AFB<sub>1</sub> вероятно е резултат от атрофия, склерозизиране, некротизиране и намаляване броя на лимфоидните клетки (Gabal & Azzam 1998, Ibrahim et al., 2000; Sakhare et al., 2007).

Хормоните на щитовидната жлеза са от първостепенно значение при подържане на физиологичния баланс в организма на живите същества (Nakamura and Nakao, 1993; Bozakova and Popova-Ralcheva, 2007). Намалената секреция на тези хормони оказва пряко въздействие върху общото състояние на организмите (Rose, 2000). Резултатите показват, че AFB<sub>1</sub> може да окаже влияние върху стойностите на T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub>, като ги понижава. Въпреки това тези промени не са свързани пряко с TSH, тъй като стойностите на този хормон показват недостоверни промени при експерименталните групи в сравнение с контролната. Промените в стойностите на T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub> би трябвало да доведат до промяна в стойностите на TSH, макар и косвено. Понижаването на стойностите на T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub> стимулира T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub> рецепторите в щитовидната жлеза и това представлява механизъм, чрез който се стимулира синтез и освобождаване на TSH (Noyan, 1993). Повишаването на стойностите на TSH стимулира усвояването на йода от храносмилателния тракт и неговата дифузия в щитовидната жлеза (Noyan, 1993; Markou et al., 2001). Йодът се отлага в щитовидната жлеза и образува комплексно съединение с молекулите на тиреоглобулина. След това всяка една молекула тиреоглобулин се свързва с още една или две молекули и по този начин се образува T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub>. В това състояние T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub> се подържат в определени нива в кръвта (Noyan, 1993; Dunn and Dunn, 1999; Markou et al., 2001). Въпреки това, в нашето изследване не беше установено достоверно повишение в стойностите на TSH и вероятно това може би се дължи на

Таблица 6. Влияние на афлатоксин В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) самостоятелно и в комбинация с Mycotox NG върху плазмената концентрация на трийодтиронина (Т<sub>3</sub>), тироксина (Т<sub>4</sub>) и тиреостимулиращия хормон (TSH) хормон при патета мюлари

Table 6. Effect of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) alone or combined with Mycotox NG on plasma triiodothyronine (Т<sub>3</sub>), thyroxine (Т<sub>4</sub>) and thyroid-stimulating hormone (TSH) in mulard ducklings

Групи	Т3 nmol/l		Т4 nmol/l		TSH mU/L	
	21-ви ден	42-ри ден	21-ви ден	42-ри ден	21-ви ден	42-ри ден
I	4.20±	3.97±	46.06±	47.32±	0.81±	0.78±
	0.079	0.083	1.17	1.01	0.024	0.046
II	3.81±	3.62±	40.64±	37.28±	0.77±	0.81±
	0.057 <sup>1b</sup>	0.072 <sup>1b</sup>	1.26 <sup>1a</sup>	1.94 <sup>1c</sup>	0.035	0.039
III	3.54±	3.47±	32.90±	28.71±	0.79±	0.77±
	0.074 <sup>1c,2a</sup>	0.053 <sup>1c,2a</sup>	1.36 <sup>1c,2c</sup>	1.07 <sup>1c,2c</sup>	0.040	0.035
IV	4.07±	3.89±	45.75±	43.69±	0.77±	0.75±
	0.055 <sup>2a,3c</sup>	0.043 <sup>2a,3c</sup>	1.40 <sup>2a,3c</sup>	0.88 <sup>2b,3c</sup>	0.040	0.040

Резултатите са представени като средни стойности (mean) ± стандартна грешка (SEM); n =20 патета във всяка група; <sup>a</sup>P<0.05; <sup>b</sup>P<0.01; <sup>c</sup>P<0.001; 1 – в сравнение с контролната група; 2 – в сравнение с I опитна група; 3 – в сравнение с II опитна група.

намалената чувствителност на рецепторите в щитовидната жлеза, причинено от афлатоксин В<sub>1</sub> (Graczyk et al., 2002; Eraslan et al., 2006). Установено е, че афлатоксините предизвикват липидна пероксидация в клетките (Rastogi et al., 2001). Увреждането на щитовидните рецептори вероятно е резултат от ускорено образуване на реактивни кислородни съединения под действие на афлатоксините, предизвикващи липидна пероксидация. Намалването на стойностите на щитовидните хормони е указание за развитието на метаболитни нарушения. Връзката между качеството на фуража и количеството на щитовидните хормони е било обект на много проучвания. Установена е съществена регулаторна функция на тези хормони върху растежа, усвояването на енергия и редица жизненоважни функции при пилета (Carew et al., 1998). При пъдпъдъци, третирани перорално посредством фуража с 2.5 mg/kg общ афлатоксин (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> и G<sub>2</sub>) в продължение на 21 дни е установено понижаване на стойностите на Т<sub>3</sub> и повишаване на Т<sub>4</sub> (Eraslan et al., 2006). Вероятно тази промяна се дължи на забавеното превръщане на Т<sub>4</sub> в Т<sub>3</sub> в периферните тъкани. Само една малка част от намиращия се в кръвта Т<sub>3</sub> се синтезира в щитовидната жлеза.

По-голямата част от него е резултат от превръщането на синтезирания в щитовидната жлеза Т<sub>4</sub> в Т<sub>3</sub> в периферните тъкани и най-вече в черния дроб чрез ензима 5-дейодиназа (Berry and Larsen, 1992). Според същите автори афлатоксините ограничават превръщането на Т<sub>4</sub> в Т<sub>3</sub> чрез инхибиране 5-дейодиназата. В резултат на това стойностите на Т<sub>3</sub> намаляват, а на Т<sub>4</sub> се повишават.

Механизмът за понижаване на плазмените стойности на Т<sub>3</sub> и Т<sub>4</sub> може да се обясни и с намалените кръвни концентрации на йод. Той е в основата на синтеза на тези хормони (Dunn and Dunn, 1999; Markou et al., 2001). Увреждането на епитела на храносмилателната система, причинено от AFB<sub>1</sub> може да намали усвояването на съдържащия се в дажбата йод (Johri et al., 1990). По тази причина стойностите на йода в кръвния серум намаляват, което от своя страна може индиректно да повлияе върху синтеза на Т<sub>3</sub> и Т<sub>4</sub> в щитовидната жлеза.

Друг механизъм, свързан с намаляване на нивата на двата хормона може да бъде свързан с промени, които настъпват при транспортирането на тези хормони в кръвта. Пример в това отношение е намаляването на стойностите на плазмените протеини (Jassar and Balvant,

1993; Graczyk et al., 2002). Това понижение от своя страна може да стане причина за друго понижение на свързаните с протеините хормони, което пък може да доведе до увеличаване на нивата на свободните хормони в кръвта.

Промените в стойностите на хормоните, характеризиращи функцията на щитовидната жлеза ( $T_3$  и  $T_4$ ) може да се обяснят с нарушаване на нормалната морфологичната структура на щитовидната жлеза. При плъхове с експериментално възпроизведена интоксикация с патулин са наблюдавани нарушения в морфологичната структура на щитовидната жлеза (лимфоидна клетъчна инфилтрация с разширяване на интерстициалната тъкан между фоликулите и дегенеративна колоидна секреция на щитовидната жлеза) (Selmanoglu and Kockaya, 2004).

В заключение смятаме, че резултатите от настоящото проучване ясно показват, че самостоятелното включване на  $AFB_1$  в нарастващи концентрации (0.5 mg/kg или 0.8 mg/kg) към фуражната смеска на патета мюлари води до забавяне на растежа, намаляване на консумацията на фураж, повишаване на конверсията на фураж и до промени в относителните тегла на вътрешните органи и плазмените концентрации на трийодтиронина ( $T_3$ ) и тироксина ( $T_4$ ). Добавянето на микосорбент осигурява превантивен ефект върху токсичните ефекти.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Наредба №15 от 03/02/2006 г. за минималните изисквания за защита и хуманно отношение към опитните животни и изисквания към обектите за използването, отглеждането и/или доставката им (обн. ДВ бр. 17/2006г.).
2. Наредба №44/20.04.2006г. за ветеринарно-медицинските изисквания към животновъдните обекти, ДВ 41 Приложение № 9/II, стр.61-62.
3. Наредба 10/3/4/2009г. за максимално допустимите концентрации на нежеланите субстанции в продукти във фуражите, издадена от министерството на земеделието и храните. Държавен вестник брой 29 от 17 април 2009.
4. Abousadi, A. M., E. Rowghani, M. Ebrahimi Honarmand, 2007. The efficacy of various

additives to reduce the toxicity of aflatoxin  $B_1$  in broiler chicks. Iranian Journal of Veterinary Research, 8, 144-150.

5. Afzal, M., Z. Saleem, 2004. Effects of addition of a mycotoxin detoxifier in poultry feed containing different levels of aflatoxins on the performance of broilers. Asi-Austral. Journal of Animal Science, 17, 990-994.

6. Azarakhsh, Y., A. Sabokbar, M. Bayat, 2011. Incidence of the Most Common Toxigenic Aspergillus Species in Broiler Feeds in Kermanshah Province, West of Iran. Global Veterinaria, 6, 73-77.

7. Berry, M. J., P. R. Larsen, 1992. 'The role of selenium in thyroid hormone action'. Endocrine Reviews, 13, 2, 207-219.

8. Bozakova, N., S. Popova-Ralcheva, 2007. Thyroid hormones level and relative liver weight in male turkeys in relationship with their welfare. Biotechnology in Animal Husbandry, 23, 5-6, 1511-1518.

9. Carew, L., B., K. G. Evarts, F. A. Alster, 1998. Growth, feed intake, and plasma thyroid hormone levels in chicks fed dietary excesses of essential amino acids. Poultry Science, 77, 295-298.

10. CAST (Council for Agriculture, Science and Technology): Mycotoxins: Risks in Plant, Animal and Human Systems. In: Task force report No. 139. Ames, Iowa, USA, 2003.

11. Directive 2002/32/EC of the European parliament and of the council of 7 may 2002 on undesirable substances and products in animal feed. Official Journal No., L 140, 30, 5, 2002.

12. D'Mello, J. P., A. M. C. Macdonald, 1997b. Mycotoxins. Animal Feed Science and Technology, 69, 155-166.

13. D'Mello, J. P., J. K. Parter, A. M. C. Macdonald, C. M. Placinta, 1997a. "Fusarium mycotoxin." In Plant and fungal toxicant, Handbook Edited by J.P. D'Mello, published by CRC Press, Boca Raton, New York, pp., 287-297.

14. Dunn, J. T., A. D. Dunn, 1999. The importance of thyroglobulin structure for thyroid hormone biosynthesis. Biochimie, 81, 505-509.

15. Eraslan, G., M. T Akdoñan, B. C. Lüman, M. Kanbur, N. Ýk Delübas, 2006. Effects Of Dietary Aflatoxin And Hydrate Sodium Calcium Aluminosilicate On Triiodothyronine, Thyroxine, Thyrotrophin And Testosterone Levels In



Quails. Turkish Journal Of Veterinary And Animal Science, 30, 41-45.

16. **FAO and WHO**, 1997. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, June 17-26. Rome.

17. **Gabal, M. A., A. H. Azzam**, 1998. Interaction of aflatoxin in the feed and immunisation against selected infectious diseases in poultry. II. Effect on one-day-old layer chicks simultaneously vaccinated against Newcastle disease infectious bronchitis and infectious bursal disease. Avian Pathology, 27, 290-295.

18. **Giray, B., G. Girgin, A. B. Engin, S. Aydin, G. Sahin**, 2007. Aflatoxin levels in wheat samples consumed in some regions of Turkey. Food Control, 18, 23-29.

19. **Graczyk, S., W. Zawadzki, B. Kotoński, A. Malicki, J. Orda, A. Malicki, J. Orda**, 2002. The thyroid levels and blood serum profiles in ducklings after chronic Aflatoxin B<sub>1</sub> administration. Medicina Veterinaria, 1, 1, 21-29.

20. **Gugnani, H. C.**, 2000. Ecology and taxonomy of pathogenic aspergilli. Frontiers in Bioscience, 8, 346-57.

21. **Ibrahim, I. K., A. M. Shareef, K. M. T. Al-Joubory**, 2000. Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis and Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis. Research in Veterinary Science, 69, 119-122.

22. **Jassar B. S., S. Balvant**, 1993. Biochemical changes in experimental aflatoxicosis in broiler chicken. Indian Journal Animal Science, 63, 847-848.

23. **Johri T. S., V. R. Sadagopan, M. A. Shrivastava, S. Jumdar**, 1990. Effect of dietary aflatoxin on the performance of purebred broiler chicks. Indian Journal Animal Science, 60, 1246-1248.

24. **Kaya, S.**, 2002. Mikotoksinler. Ücinden: Kaya, S., Pirincci & I., Bilgili, A. ed: Veteriner ekimli Üinde Toksikoloji. Medisan Yayõn Serisi 53, Ankara, 544-573.

25. **Ledoux, D. R., G. E. Rottinghaus, A. J. Bermudez, M. Alonso-Debolt**, 1999. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. Poultry Science, 78, 204-210.

26. **Lillehoj, E. B.**, 1983. Effect of environmental and cultural factors of aflatoxin contami-

nation of developing corn kernels. In: V.L. Diener, R.L. Asquith and J.W. Dickens (Eds). Aflatoxin and *A. flavus* in corn. Southern Coop Serv. Bull. 279, Craftmaster, Opelika, Ala, 112P.

27. **Manafi, M., B. Umakantha, M. Noor Ali, H. D. Narayana Swamy**, 2012. Study of the Combination Effects of Aflatoxin and T-2 Toxin on Performance Parameters and Internal Organs of Commercial Broilers. Global Veterinaria, 8, 4, 393-396.

28. **Markou, K., N. Georgopoulos, V. Kyriazopoulou, A. G. Vagenakis**, 2011. Iodine-induced hypothyroidism. Thyroid, 11, 501-510.

29. **Miazzo, R., M. F. Peralta, C. Magnoli, M. Salvano, S. Ferrero, S. M. Chiacchiera, E. C. Q. Carvalho, C. A. R. Rosa, A. Dalcero**, 2005. Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. Poultry Science, 84, 1-8.

30. **Mohamed, A. H., M. H. Mohamed**, 2009. Haemato-Biochemical And Pathological Studies On Aflatoxicosis And Treatment Of Broiler Chicks In Egypt. Veterinaria Italiana, 45, 2, 323-37.

31. **Moss, M. O.**, 1991. Influence of agricultural biocides on mycotoxin formation in cereals. Chelkowski, J. Cereal grain: Mycotoxins, fungi and quality in drying and storage, pp. 281-295.

32. **Nakamura, H., K. Nakao**, 1993. Mechanism of regulation of TSH biosynthesis and secretion. Nippon Rinsho, 51, 2611- 2617.

33. **Noyan, A.**, 1993. Hormonlar. In: *Yasamda ve Hekimlikte Fizyoloji*, Ankara, pp. 977-1033.

34. **Oguz, H. & S. S. Parlat**, 2004. Effects of dietary mannanoligosaccharide on performance of Japanese quail affected by aflatoxicosis. South African Journal of Animal Science, 34, 3, 144-148.

35. **Osborne, D. J., P. B. Hamilton**, 1981. Decreased pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis. Poultry Science, 60, 1818-1821.

36. **Ostrowski-Meissner, H. T.**, 1983. Effect of contamination of diets with aflatoxins on growing ducks and chickens. Tropical Animal Health and Production, 15, 161-168.

37. **Ortatatli, M., H. Oguz**, 2001. Ameliorative effects of dietary clinoptilolite on pathological changes in broiler chickens during aflatoxicosis. Research in Veterinary Science, 71, 59-66.

38. Parlat, S. S., M. Ozkan, H. Oguz, 2001. Biological suppression of aflatoxicosis in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) by dietary addition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). Research in Veterinary Science, 71, 207-211.
39. Qureshi, M. A., J. Brake, P. B. Hamilton, W. M. Hagler, S. Nesheim, 1998. Dietary exposure of broiler breeders to aflatoxin results in immune dysfunction in progeny chicks. Poultry Science, 77, 812-819.
40. Rastogi, R., A. K. Srivastava, A. K. Rastogi, 2001. Long term effect of aflatoxin B<sub>1</sub> on lipid peroxidation in rat liver and kidney: effect of picroliv and silymarin. Phytotherapy Research, 15, 307-310.
41. Robens, J. F., J. L. Richard, 1992. Aflatoxins in animal and human health. Reviews of Environmental Contaminant and Toxicology, 127, 69-94.
42. Rosa, C. A. R., R. Miazzo, C. Magnoli, M. Salvano, S. M. Chiacchiera, S. Ferrero, M. Saenz, E. C. Q. Carvalho, A. Dalcero, 2001. Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. Poultry Science, 80, 139-144.
43. Rose, S. R., 2000. Disorders of thyrotropin synthesis, secretion, and function. Current Opinion Pediatrics, 12, 375-381.
44. Saad, M. M., 1993. Preliminary study on formulation and application of aflatoxins(s) – antidote. Veterinary Medical Journal Giza, 41, 1, 33-37.
45. Safamehr, A., 2008. The performance and hematological characters in broiler chicks fed ammonia treated aflatoxin contaminated feed. Journal of animal and veterinary advances, 7, 3, 331-336.
46. Sakhare, P. S., S. D. Harne, D. R. Kalorey, S. R. Warke, A. G. Bhandarkar, N. V. Kurkure, 2007. Effect of Toxiroak polyherbal feed supplement during induced aflatoxicosis, ochratoxicosis and combined mycotoxicoses in broilers. Veterinarski Arhiv, 77, 129-146.
47. Selmanoglu, G., E. A. Kocoaya, 2004. "Investigation of the effects of patulin on thy-roid and testis and hormone levels in growing male rats." Cited from Hassan *et al.* (2004). Journal Egyptian Veterinary Medical Association, 64, 1, 59-68.
48. Sharline, K. S. B., B. J. Howarth, R. D. Wyatt, 1980. Effect of dietary aflatoxin on reproductive chicks. Poultry Science, 72, 651-657.
49. Shashidhara, R. G., G. Devegowda, 2003. Effect of mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. Poultry Science, 82, 1319-1325.
50. Teleb, H. M., A. A. Hegazy, Y. A. Hussein, 2004. Efficiency of Kaolin and Activated Charcoal to Reduce the Toxicity of Low Level of Aflatoxin in Broilers. Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences), 5, 1, 1425,145-158.
51. Verma, J., J. S. Johri, B. K. Swain, S. Ameena, 2004. 'Effect of graded levels of aflatoxin, ochratoxin and their combinations on the performance and immune response of broilers. British Poultry Science, 45, 4, 512-518.
52. Verma, J., B. K. Swain, T. S. Johri, 2002. Effect of various levels of aflatoxin and ochratoxin A and combinations thereof on protein and energy utilisation in broilers. Journal of Science Food and Agriculture, 82, 1412-1417.
53. Yildirim, E., İ. Yalchinkaya, M. Kanbur, M. Çnar, E. Oruc, 2011. Effects of yeast lucomannan on performance, some biochemical parameters and pathological changes in experimental aflatoxicosis in broiler chickens. Revue de Médecine Vétérinaire, 162, 8-9, 413-420.
54. Yildiz, A. O., S. S. Parlatand, I. Yildirim, 2004. Effect of dietary addition of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on some performance parameters of adult Japanese quail (*Coturnix japonica*) induced by aflatoxicosis. Revue de Médecine Vétérinaire, 155, 38-41.
55. Zhao J, R. B. Shirley, J. D. Dibner, F. Uraizee, M. Officer, M. Kitchell, M. Vazquez-Anon, C. D. Knight, 2010. Comparison of hydrated sodium calcium aluminosilicate and yeast cell wall on counteracting aflatoxicosis in broiler chicks. Poultry Science, 89, 2147-2156.
56. Zimmerman, J., 2002. Inspection and consumer services—understanding mycotoxins. <http://www.ag.state.co.us/ics/Techserve/Mycotoxins.html>. Accessed: Oct. 2002.

INFLUENCED OF AFLATOXIN B<sub>1</sub> ON GROWTH AND TRIIODOTHYRONINE,  
THYROXINE AND THYROID-STIMULATING HORMONE IN MALARD DUCKS

*I. Valchev, L. Lazarov, D. Kanakov, Ts. Hristov, R. Binev, Y. Nikolov*  
*Thrakia University, Faculty of Veterinary Medicine - Stara Zagora*

## SUMMARY

The purpose of this study was to determine the effect of aflatoxin B<sub>1</sub> independently or in combination with Mycotox Ng, on productive traits, relative weights of visceral organs and blood levels of some hormones (T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> and TSH) in mulard ducks. Experiments were conducted with 4 groups of 20 10-day-old ducklings each. The duration of the experiment was 42 days. The groups were as followed: group I – control, fed a standard compound feed according to the species and the age; group II – experimental, whose feed was supplemented with 0.5 mg/kg AFB<sub>1</sub>, group III – experimental, supplemented with 0.8 mg/kg AFB<sub>1</sub> and group IV – experimental, supplemented with 0.5 mg/kg AFB<sub>1</sub> and 2 g/kg Mycotox NG. The weight, weight gain, feed consumption and feed conversion were determined on days 14, 28 and 42 of the experiment. Blood hormone concentrations were assayed on days 21 and 42 on samples obtained from v. metatarsalis medialis by electroluminescence immunoassay and Elecsys 2010 (Roche-Hitachi) analyser. Ducklings from experimental groups II and III exhibited lower live body weight, weight gain and feed consumption, increased feed conversion ratio and higher relative weights of the liver, kidneys, heart, pancreas, gizzard and proventriculus. At the same time, the relative weights of the thymus, Bursa of Fabricius and the spleen were statistically significantly lower. Lower blood values of triiodothyronine (T<sub>3</sub>) and thyroxine (T<sub>4</sub>) were observed in experimental groups II and III. The supplementation of the feed of experimental group IB with Mycotox NG had a protecting effect against the deleterious influence of AFB<sub>1</sub> on productive traits, visceral organs weights and blood triiodothyronine (T<sub>3</sub>) and thyroxine (T<sub>4</sub>) concentrations.

**Key words:** *Aflatoxin B1, live weight, weight gain, feed intake, feed conversion, Mycotox NG, triiodothyronine (T<sub>3</sub>), thyroxine (T<sub>4</sub>), thyroid-stimulating hormone (TSH)*

e-mail:valtchev@abv.bg