

Diyetle aflatoksin alan broylerlerde karaciğer ve serum vitamin A-karotin düzeyleri*

Arif ALTINTAŞ¹, Ali BİLGİLİ², Tünay KONTAŞ¹, Gökhan ERASLAN²

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara; ²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara

Özet: Çalışmada, yemle 15, 30 ve 45 gün süreyle 50, 100, 500 ve 1000 ppb miktarda aflatoksin (AF) verilmesinin broylerlerde serum ve karaciğer vitamin A ve karotin düzeyleri üzerine etkisi incelenmiştir. Her grupta 15 hayvan olacak şekilde 75 hayvandan 5 grup oluşturulmuş ve gruplardan birine normal yem diğerlerine AF katılmış yem ile birlikte *ad libitum* su verilmiştir. Çalışmanın 15, 30 ve 45. günlerinde deneme ve kontrol grubundaki hayvanlardan 5'er adet kesilerek kan ve karaciğer örnekleri alınmış, vitamin A ve karotin düzeyleri UV-spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Aflatoksinin miktarına ve alım süresine göre elde edilen ortalama değerler ile gruplararası farklılıkların istatistik önemlilikleri parametrik olmayan varyans analizi ve Mann-Whitney-U testi ile değerlendirilmiştir. Yemle 45 gün süreyle 50 ppb AF verilmesinin broylerlerde karaciğer vitamin A değerini yükselttiği, 30 gün süreyle 1000 ppb verilmesinin ise karaciğer vitamin A miktarını önemli derecede düşürdüğü ve bu etkinin 45. günde de sürdüğü; karaciğer karotin değerlerinin ise AF dozlarından etkilenmediği ancak, maruz kalma süresine bağlı olarak 30. günde geçici olarak düşüş kaydettiği gözlenmiştir. Yem ile 45 gün 1000 ppb AF verilmesinin serum vitamin A ve karotin değerlerinde de önemli düşüşe neden olduğu (en düşük değerler 14.72±2.75 ve 34.34±8.56 µg/dl bu grupta) saptanmıştır. Sonuç olarak, yemle AF verilmesinin broyler karaciğer vitamin A metabolizmasını doza ve maruz kalma süresine bağlı olarak farklı şekilde etkilediği ve yemde 1000 ppb AF'nin broylerlerde vitamin A için etkili miktar olduğu; bu miktarda AF'nin 30-45 gün süreyle verilmesinin karaciğer ve serum vitamin A değerlerinde önemli düşüşlere yol açtığı kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin alımı, broyler civciv, karaciğer, karotin, serum, vitamin A

Liver and serum vitamin A-carotene levels in broilers following dietary aflatoxin exposure

Summary: Serum and liver vitamin A-carotene levels were investigated in broilers exposed to 50, 100, 500 and 1000 ppb of aflatoxin (AF) during 45 days. Totally, 75 broilers were divided into 5 groups containing 15 broilers in each group. Control group was fed with normal feed. Trial groups were fed with AF added feed. *Ad libitum* water was given to broilers in all groups. On the 15th, 30th and 45th days of the study, five animals from trial and control groups were slaughtered to obtain the blood and liver tissues. Vitamin A and carotene levels were measured spectrophotometrically on these tissues. Statistical significance of average means according to the time and dose of aflatoxin intake and differences between groups were evaluated using nonparametric varians analysis and Mann-Whitney-U test. Vitamin A levels were initially decreased following the intake of feed added AF. Following this decrease vitamin A levels were increased depend on the doses of AF. Moreover, vitamin A levels in broilers consumed 1000 ppb AF for 30 days were significantly decreased (14.98±1.86 µg/g) and this effect continued up to day 45. Carotene levels of liver were not effected with the doses of AF. However, it was temporally lowered on the day 30. Vitamin A and carotene levels were also significantly decreased with feed intake including 1000 ppb AF. The most lowered levels (14.72±2.75 and 34.34±8.56 µg/dl, respectively) were observed in this group. As a result, AF intake with feed had a different effect on vitamin A metabolism of broilers depend on the dose and intake time. As a most effective dose, 1000 ppb AF intake with feed for 30-45 days were significantly lowered serum and liver vitamin A levels.

Key words: Aflatoxin exposure, broiler chick, carotene, liver, serum, vitamin A

Giriş

Aflatoksinler (AF) *Aspergillus* soyundan bazı mantarların ürettikleri ikincil zehirli metabolitler olup besinlerde ve yemlerde bulunmaları doğal bir kirlilik olarak kabul edilir (9,19,39). En zehirli olanı ve doğal olarak en çok rastlananı AFB₁ olup başlıca karaciğer ve böbrek üzerine etkilidir (18,40). Aflatoksinler, kendileri doğrudan etkili olmayıp, karaciğerde mikrozomal enzimler ile uğradıkları metabolik değişiklikler sonucu oluşturdukları

ları epoksit türevleri (AFB₁-2,3 epoksit) ile etkili olurlar (36).

Aflatoksin ile bulaşık yemlerin alımı hayvanlarda akut, subakut ve kronik zehirlenmelere (aflatoksikozis) neden olabilir (40). Klinik belirtiler tür, yaş, beslenme ve sağlık durumu, alınan AF miktarı ve alım süresi, başka hastalıkların varlığı ve diğer mikotoksinler ile ilişkilidir (24,25,41). Canlı ağırlık artışında azalma, sinirsel bozukluklar ve opistotonus (3), karaciğer hücrelerinin va-

* Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Etik Kurul Onayı Alınmıştır.

kuoleşmesi (7,23), safra kanallarında proliferasyon ve periportal fibrozis (32) başlıca klinik ve patolojik belirtilerdir.

Aflatoksinlerin zehir etkileri genç broylerde geniş şekilde incelenmiş (16,27) ve civciv büyümesini, başta karaciğer ve böbrek olmak üzere birçok organ ve doku fonksiyonlarını olumsuz etkilediği bildirilmiştir (27). Akut ve subakut şekilleri çok yüksek dozda alım ile ilgilidir. Birkaç gün alım akut, iki hafta alım subakut zehirlenme kabul edilir. İlk belirtiler iştahsızlık ve mukozaların sarımtırak olması, kusma ve dışkıda kan görülmesidir. Perakut şekilde, şiddetli kusma ve konvülviz krizler göstererek, birkaç saatte ölüm şekillenir (11). Akut zehirlenme büyümede gerileme, ağırlık kaybı, sarılık ve ölüme neden olurken, düşük dozlarda uzun süreli alımların etkileri birçok tür için çok daha şiddetlidir (25). Kanatlılarda yemde >625 ppb'de AFB₁ metabolik olayları etkiler (13). Aflatoksinlerin ve diğer mikotoksinlerin tavukçuluk sektöründeki önemi karaciğer fonksiyon bozukluğu (6,12,33), bağışıklık sisteminin baskılanması (39), yemden yararlanmada düşüş, ölüm oranında artış (33), protein gereksiniminde artış (34) ve yumurta veriminde düşüş (12) sonucu şekillenen ekonomik kayıp ile ilgilidir.

Aflatoksin zehirlenmesine en duyarlı organ karaciğerdir (8,15,22,33). Kronik aflatoksikozisli broyler civcivlerde büyümede yavaşlama, zayıf pigmentasyon, karaciğer yağlanması, hepatik hiperlipemi ve hipokarotinoide mi gözlenmiştir (5). Karaciğer yağlanması, aflatoksikozisde bozulan karaciğer fonksiyonuna bağlı olarak yağ biyosentezinde ve taşınmasında aksama sonucu karaciğer nötral lipid birikimiyle ilişkilendirilmiştir (12). Gerçekten de, yemleri ile AF alan broyler civcivlerde karaciğerin ağırlığında ve lipid miktarında artış (2,30,33), serum K, Cu, LDH ve kolesterol değerlerinde düşüş, kreatinin, ALT, ürik asit ve trigliserit değerlerinde artış rapor edilmiş ve serum Na, Mg, P, AST, ALP, GGT, CK, protein, albumin, alfa-globulin değerlerinde ise önemli değişimler olmadığı bildirilmiştir (30). Benzer bir başka çalışmada (8) trigliserid, Ca, P ve ALT değerlerinde düşüş; AST değişmezken, LDH ve GGT aktivitelerinde artış bildirilmiştir.

Piliçlerde yemleriyle birlikte AF alımının karaciğerde vitamin A miktarını düşürdüğü ve bu düşüşün aflatoksinlerin karaciğerde vitamin A'nın depolanması üzerine olumsuz etkilerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (20,29). Benzer şekilde, ağızdan 21 gün süreyle günde 0,2 ve 0,3 µg/g-ca AFB₁ alan civcivler üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada (7) karaciğer hü-

rele-rinde vakuoleşme gözlenmiş ve lezyonların oluşumu ve sıklığı alınan AF miktarı ile ilişkili bulunmuştur.

Ülkemizde üretilen yem ve yem hammaddelerinin sakıncalı miktarlarda mikotoksinlerle kirlendiği ortaya konmuş ve özellikle AF değerlerinin tolerans limitlerine çok yakın veya daha yüksek düzeylerde olduğu saptanmıştır (17,26,37).

Hayvancılık sektörünün başlıca girdilerinden birini oluşturan yem ve yem hammaddelerinin hijyenik kalitesi hem hayvancılığın gelişmesi, hem de halk sağlığı yönünden kuşkusuz son derece önemlidir. Hayvan ve dolayısıyla da insan sağlığını tehdit eden sorunun vitamin A ile ilişkisine dikkat çekmek düşüncesiyle planlanan bu çalışmada, metabolik etkili olabilecek düzeylerde AF katılmış yemlerle değişik sürelerde beslenen broylerlerin karaciğer ve serum vitamin A ve karotin düzeylerinin ölçülmesi ve AF dozu ve alım süresi ile ilişkili olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma, 1 kontrol ve 4 deneme grubundan oluşmuş ve her grupta 15 hayvan olmak üzere toplam 75 adet günlük broyler erkek civcivden materyal olarak yararlanılmıştır. Kontrol gruba aflatoksinsiz broyler civciv büyüme yemi (Tablo 1), deneme gruplarına ise sırasıyla 50, 100, 500 ve 1000 ppb aflatoksin içerecek şekilde AF (B₁+B₂+G₁+G₂) katılmış yem 45 gün süreyle verilmiştir. Aflatoksin üretiminde Shatwell ve ark. (31)'nin bildirdikleri metodu esas alan Demet ve ark. (4)'nin aynı amaçla pirinçte uyguladıkları metot kullanılmıştır. İçme suyu hayvanların önlerinde taze olarak sürekli bulundurulmuştur. Çalışmanın 15, 30 ve 45. günlerinde hem deneme, hem de kontrol grubundaki hayvanlardan 5'er adet keşilerek kan ve karaciğer örnekleri alınmış ve kan serumlarının tamamı aynı gün, karaciğer örnekleri ise bir hafta içinde vitamin A ve karotin yönünden analiz edilmiştir (35). Yöntem, serumda mevcut olan ve karaciğerde aseton-hekzan (1:1) ekstraksiyonundan ve hidrolizinden sonra (10) serbest kalan retinolün 325 nm'deki (UV), karotinin ise 453 nm'deki maksimum ışık absorpsiyonunun ölçümünü esas almıştır. Karaciğer örnekleri derin dondurucuda (-30°C) muhafaza edilmiş ve değerler yaş ağırlık üzerinden hesaplanmıştır. Yemle alınan AF'nin miktarı ve alım süresine göre elde edilen ortalama değerler ile gruplararası farklılıkların istatistik önemlilikleri bilgisayarda SPSS paket programında parametrik olmayan varyans analizi, Mann-Whitney-U testi ile değerlendirilmiştir (21).

Tablo 1. Broyler civciv büyüme yemi içeriği.

Table 1. Composition of the growth feed for broiler chicks.

İçerik	Düzey
Su (%)	12
Ham protein (%)	23
Ham selüloz (%)	6
Ham kül (%)	8
HCl'de çözünmez kül (%)	1
Metabolik enerji (kcal/kg)	3100
Ca (g/kg)	1,5
P (g/kg)	0,7
Na (g/kg)	0,30
NaCl (g/kg)	0,35
Lizin (g/kg)	1,2
Metiyonin (g/kg)	0,50
Sistin (g/kg)	0,40
Mangan (mg/kg)	60
Çinko (mg/kg)	40
Vitamin A (IU/kg)	8000
Vitamin D ₃ (IU/kg)	800
Vitamin B ₂ (mg/kg)	4
Vitamin B ₁₂ (mg/kg)	10
Vitamin E (mg/kg)	15
Vitamin K ₃ (mg/kg)	2

Bulgular

Diyetle 50 ppb AF alan grubun serum ve karaciğer vitamin A ve karotin değerlerinde, 100 ppb alan grubun serum vitamin A ve karotin değerlerinde, 500 ppb alan grubun serum ve karaciğer karotin değerlerinde, 1000 ppb alan grubun karaciğer karotin ve vitamin A değerlerinde alımın 30. gününde 15. gün değerlere nazaran önemli düşüş, 45. günde ise tekrar 15. günlük değerlere dönüş gözlenmiştir (Tablo 2, 3, 4 ve 5). Broyler civcivlerde yemle alınan AF miktarına bağlı olarak karaciğer vitamin A miktarının azaldığı gözlenmiş ve bu dönemde serum vitamin A değerlerinde artış olduğu, daha sonraki dönemde ise, perifer doku hücrelerince kullanımına bağlı olarak serum vitamin A değerlerinin düştüğü saptanmıştır (Tablo 2 ve 4).

Karaciğer vitamin A ortalama değerlerinin 50 ppb AF alan grupta denemenin 15 ve 30. gün değerleri kontrol gruba göre önemli derecede ($p < 0.05$) düşük olduğu; 45. gün değerlerinde de düşüş görülmüşse de farkın istatistik önemli olmadığı hesaplanmıştır. Denemenin 100 ve 500 ppb AF alan gruplarında 15, 30 ve 45 gün sürelerde ka-

Tablo 2. Karaciğer vitamin A ortalama değerleri ($\mu\text{g/g}$ yaş ağı.) ile gruplararası farkın istatistik önemliliği.Table 2. Average means of liver vitamin A levels ($\mu\text{g/g}$) and significance of statistical difference among the groups.

Gruplar	n	15. gün	30. gün	45. gün
Kontrol	5	27,76 \pm 0,71	24,74 \pm 0,71	29,50 \pm 0,81
50 ppb	5	22,86 ^{ab} \pm 0,95	20,86 ^{ab} \pm 0,77	27,62 ^{bA} \pm 1,09
100 ppb	5	27,22 ^A \pm 1,55	27,20 ^A \pm 2,79	27,36 ^A \pm 1,97
500 ppb	5	28,20 ^A \pm 1,27	27,04 ^{AB} \pm 1,87	25,56 ^{AB} \pm 1,89
1000 ppb	5	25,34 ^{aAB} \pm 1,12	14,98 ^{bc} \pm 1,86	22,14 ^{cB} \pm 1,10

A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerlerarası fark önemlidir ($p < 0.05$).

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerlerarası fark önemlidir ($p < 0.05$).

Tablo 3. Karaciğer karotin ortalama değerleri ($\mu\text{g/g}$ yaş ağı.) ve gruplararası farkın istatistik önemliliği.Table 3: Average means of liver carotene levels ($\mu\text{g/g}$) and significance of statistical difference among the groups.

Gruplar	n	15. gün	30. gün	45. gün
Kontrol	5	1,52 \pm 0,11	0,88 \pm 0,25	1,84 \pm 0,09
50 ppb	5	1,66 ^a \pm 0,14	1,18 ^b \pm 0,18	1,84 ^a \pm 0,19
100 ppb	5	1,54 \pm 0,18	1,56 \pm 0,17	2,00 \pm 0,67
500 ppb	5	1,88 ^a \pm 0,08	1,32 ^b \pm 0,08	1,46 ^b \pm 0,13
1000 ppb	5	1,90 ^a \pm 0,23	0,64 ^b \pm 0,24	1,32 ^{ab} \pm 0,15

Tablo 4. Serum vitamin A ortalama değerleri ($\mu\text{g/dl}$) ile gruplararası farkın istatistik önemliliği.Table 4. Average means of serum vitamin A levels ($\mu\text{g/dl}$) and significance of statistical difference among the groups.

Gruplar	n	15. gün	30. gün	45. gün
Kontrol	5	30,96 \pm 1,41	24,52 \pm 0,91	31,48 \pm 0,48
50 ppb	5	33,20 ^A \pm 2,08	22,90 ^{AB} \pm 4,56	35,94 ^A \pm 2,22
100 ppb	5	35,62 ^{aA} \pm 3,89	19,44 ^{bA} \pm 2,31	25,18 ^{cB} \pm 1,60
500 ppb	5	17,34 ^{ab} \pm 2,43	30,70 ^{BB} \pm 1,71	32,36 ^{bA} \pm 2,46
1000 ppb	5	27,42 ^{aA} \pm 1,94	22,90 ^{abA} \pm 1,37	14,72 ^{bc} \pm 2,75

Tablo 5. Serum karotin ortalama değerleri ($\mu\text{g}/\text{dl}$) ile gruplararası farkın istatistik önemliliği.
Table 5. Average means of serum carotene levels ($\mu\text{g}/\text{dl}$) and significance of statistical difference among the groups.

Gruplar	n	15. gün	30. gün	45. gün
Kontrol	5	50,58 \pm 5,99	41,86 \pm 3,03	64,70 \pm 6,07
50 ppb	5	79,36 ^a \pm 7,42	51,02 ^b \pm 5,25	110,48 ^{cB} \pm 11,84
100 ppb	5	73,32 ^a \pm 5,87	44,74 ^b \pm 2,94	78,76 ^{aA1)} \pm 6,77
500 ppb	5	62,26 ^a \pm 7,75	58,26 ^a \pm 8,79	108,92 ^{bB1)} \pm 11,73
1000 ppb	5	69,38 ^a \pm 6,85	64,10 ^{ab} \pm 9,67	34,34 ^{bC} \pm 8,56

raciğer vitamin A değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Buna karşın, 1000 ppb AF alan grupta 30 ve 45. günde karaciğer vitamin A değerlerinde önemli ($p<0.01$) düşüş kaydedilmiştir (Tablo 2). Karaciğer karotin düzeylerinin yemdeki AF miktarına bağlı olarak önemli bir değişiklik göstermedikleri fakat, genelde 15. gün değerlerine göre 30. gün değerlerde düşüş, 45. gün değerlerde ise artış saptanmıştır (Tablo 3).

Serum vitamin A değerleri 500 ppb AF alan grupta 15. günde düşüş ($p<0.01$), 30. günde artış ($p<0.01$) göstermiş, 45. günde ise değişmemiştir. Denemenin 1000 ppb AF alan grubunda ise, 15. ve 30. gün değerlerde önemli bir sapma olmazken, 45. günde önemli düşüş ($p<0.01$) gözlenmiştir (Tablo 4). Kontrol değerlere göre en önemli düşüş ($17.34\pm 2.43 \mu\text{g}/\text{dl}$) 500 ppb'lik grupta 15. günde gözlenmiş fakat aynı grupta 30. günde önemli bir artış ($30.70\pm 1.71 \mu\text{g}/\text{dl}$) dikkati çekmiştir. Serum vitamin A değerlerinde önemli düşüş 45 gün süreyle 100 ve 1000 ppb AF alan grupta da izlenmiş (sırasıyla 25.18 ± 1.60 ve $14.72\pm 2.75 \mu\text{g}/\text{dl}$) ve özellikle 1000 ppb dozda AF alımının serum vitamin A değerlerine daha etkili olduğu saptanmıştır (Tablo 4). Serum karotin ortalama değerleri açısından AF alan deneme gruplarında doza bağlı olarak 15 ve 30. günde önemli bir farklılık gözlenmezken, 45 gün 50 ve 500 ppb AF alan gruplarda artış ($p<0.01$); 1000 ppb alan grupta ise düşüş ($p<0.01$) saptanmıştır (Tablo 5). Yem ile 1000 ppb AF alımı serumda hem vitamin A hem de karotin değerlerinde düşüşe neden olmuştur (Tablo 4 ve 5).

Klinik olarak, 50 ve 100 ppb AF alan deneme gruplarında gözle görülebilir bir bozukluk şekillenmezken; 500 ve 1000 ppb AF alan deneme gruplarında durgunluk, zayıflık, yürüme bozuklukları, tüylerde kabarıklık gözlenmiş ve bu tespitlerin özellikle 30. ve 45. günlerde daha belirgin oldukları dikkat çekici bulunmuştur. Yüksek miktarda AF alan bazı hayvanların deri altında peteşiyel kanamalar gözlenmiş fakat deneme boyunca ölüm olaylarına rastlanmamıştır.

Tartışma ve Sonuç

Aflatoksin alımıyla ilgili olarak gelişen karaciğer fonksiyon bozukluklarında bir çok kan ve doku parametresine ek olarak serum ve karaciğer vitamin A ve

karotin düzeylerinde de değişiklikler beklenir. Nekroza uğramış hepatositlerden akut olgularda vitamin A ya da karotinoidlerin salınımı gerçekleşebilir. Kronik olgularda ise, serum düzeylerinde düşüş gözlenmesi daha belirgin olabilir. Nitekim, broyler civcivlerde yemle alınan AF doza bağlı olarak karaciğer vitamin A miktarının azaldığı gözlenmiş ve bu dönemde serum vitamin A değerlerinde artış olduğu daha sonraki dönemde ise değerlerin düştüğü saptanmıştır (Tablo 2 ve 4). Bu durum, vitamin A'nın karaciğer dışı dokular tarafından alınıp kullanılması ile açıklanabilir. Yemle düşük miktarda (50 ppb) AF alan grupta karaciğer vitamin A depolarında azalma 15 ve 30. günde kendini göstermiş ve 45. günde yeniden başlangıç düzeylerine ulaşmıştır. Bu durum vücudun yemle AF alımına adaptasyonu ile ilgili olabilir. Buna karşın, yemde AF miktarı 1000 ppb'ye çıktığında karaciğer vitamin A depolarından boşalma 30 ve 45. günde gerçekleşmiştir (Tablo 2). Bu durumda, AF miktarından karaciğer metabolizmasının etkilendiği ve düşük ya da yüksek miktarda AF alan broylerlerde en etkili alm süresinin 30 gün olduğu söylenebilir kanısındayız. Çünkü, en düşük ortalama değere ($14.98\pm 1.86 \mu\text{g}/\text{g}$) bu dönemde rastlanmıştır (Tablo 2). Benzer sonuçlar yemle AF alan broyler civcivlerde gözlenmiş ve aflatoksinin vitamin A depolanmasını ve metabolizmasını bozması ile ilişkilendirilmiştir (20,29). En düşük ve en yüksek miktarda AF alan gruplarda alm süresine bağlı olarak karaciğer vitamin A değerlerinde benzer dalgalanmalar gözlenmiş; 15. gün değerlere göre 30. gün değerlerinde düşüş, 45. gün değerlerinde ise artış dikkat çekmiştir. Ara dozlarda AF alanlara ait değerlerde önemli sapmalar meydana gelmemiştir. Bu sonuca göre, en etkili miktarın 1000 ppb olduğu söylenebilir. Benzer bir çalışmada (9), broyler civcivlere değişik miktarlarda saf AFB₁ tek veya AFB₂ ile birlikte 5 hafta verilmiş ve deneme sonunda morbidite, mortalite, immun cevap, yemden yararlanma etkilenmemiş ve sadece 1000 ppb'de büyük karaciğer lezyonları ile gözlenmiştir. Aynı çalışmada, 400 ve 800 ppb AF alan broylerlerde karaciğerde orta şiddette histopatolojik değişiklikler gözlenmiş ve bu değişikliklerin 100 ve 200 ppb'de ılımlı oldukları yönünde görüş bildirilmiştir. Benzer bir diğer çalışmada (29), üç hafta süre ile 4 ppm AFB₁ içeren yemle beslenen broyler civcivlerde AFB₁'in ka-

raciğerin vitamin A depolamasını olumsuz yönde etkilediği saptanmıştır. Karaciğer karotin değerleri açısından da 15. gün değerlere göre 30. gün değerlerde düşüş 45. gün değerlerde ise artış dikkati çekmiş (Tablo 3) ve en etkili alım süresinin 30 gün olduğu görüşüne varılmıştır. Tüm gruplarda 30. günde önemli düşüşler gözlenmiş ancak, gruplar arasında doza bağlı istatistik önemli bir fark bulunamamıştır (Tablo 3). Bu bulgu, karaciğer karotinlerinin yemle verilen AF miktarlarından önemli derecede etkilenmediklerini gösterebilir.

Serum vitamin A ortalama değerleri dikkate alındığında, 50 ve 100 ppb miktarda AF alanlarda 15. gün değerlere göre 30. gün değerlerinde düşüş, 45. gün değerlerinde ise yeniden 15. gün değerlerine dönüş gözlenmiştir. Serum vitamin A değerleri 500 ppb AF alımında kontrollere göre 15. günde önemli düşüş, 30. günde artış dikkati çekmiş, 45. gün değerlerde ise artışın devam ettiği gözlenmiştir. Bu artışın karaciğer vitamin A depolarının boşalmasından ileri geldiği düşünülebilir. 1000 ppb AF alan grupta önemli derecede düşüş 45. günde gözlenmiştir ($14.72 \pm 2.75 \mu\text{g/dl}$). Bu değer deneme süresince saptanan en düşük serum vitamin A düzeyi olup buradan, en etkili miktarın 1000 ppb ve alım süresinin 45. gün sonucu çıkarılabilir. Karaciğer vitamin A depolarının boşalmasına rağmen serum vitamin A değerindeki bu düşüşün nedeni olarak çevre dokular tarafından kullanılmak üzere vitamin A'nın serumdan çekilmiş olması düşünülebilir. Diyetle 500 ppb AF'nin onbeş gün süreyle alımının serum vitamin A değerlerinde önemli düşüşe neden olduğu, daha sonra değerlerin 30 ve 45. günde tekrar artış göstererek kontrol düzeyine ulaştığı dikkat çekici bulunmuştur (Tablo 4). Bu yeniden yükseliş karaciğer vitamin A depolarının boşalması ile ilişkili olabilir.

Tavuk için normal serum vitamin A ve karotin düzeyleri sırasıyla 32.0 ± 20.9 ve $142.0 \pm 101.0 \mu\text{g/dl}$ olarak verilmiştir (1). Çalışmada kontrol grubu oluşturan broylerlerde serum vitamin A ortalama değerinin 30. günde hafif derecede düşük olduğu, karotin ortalama değerinin ise referans değerinin altında kaldığı gözlenmiştir (Tablo 4). Düşük karaciğer değerleri karaciğerin kütesel büyümesi sonucu miktarın düşüşü ile de ilişkilendirilebilir. Nitekim, yemle AF alan civcivlerde AF'nin karaciğerin ağırlığını ve lipid miktarını artırdığı rapor edilmiştir (2,33). Vitamin A yetersizliğinin de karaciğerin karma fonksiyonlu oksijenaz aktivitesini etkileyerek AF metabolizmasını bozduğu rapor edilmiştir (2).

Broyler civcivlerde vitamin A gereksinimi 0-4 haftalıkta 12 000 İÜ/kg yem, 5-10 haftalıkta 10 000 İÜ/kg yem olup (28) deneme hayvanlarına verilen yem (vitamin A içeriği 8 000 İÜ/kg) bu açıdan hafif düşük ol-

duğu (Tablo 1), fakat çalışma sonuçlarını etkileyebilecek boyutlarda olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir.

Serum β -karotin değerleri açısından 15. ve 30. günlerde gruplar arasında belirgin farklılıklara rağmen farkın istatistik yönden önemli olmaması serum β -karotin değerlerinin büyük varyasyon göstermesi (38) ve uygulama dozunun düşük oluşu ile açıklanabilir. Broyler civcivlerde pigmentasyon derecesinin bir göstergesi olan plazma karotinoidlerinin 2,7 ppm AF alımında ancak anlamlı olarak değiştikleri bildirilmiştir (5). Buna rağmen, 45. gün değerler için uygulanan AF miktarları arasında önemli farklılıklar saptanmıştır (Tablo 5). Maruz kalınan miktara bağlı olarak gözlenen sapmalar karaciğer karotinoidlerinin salınmasından kaynaklanabilir.

Deneme süresince hayvanlarda ölüm olaylarına hiç rastlanmaması AF miktarlarının düşük ve alım süresinin kısa oluşu ile açıklanabilir. Çünkü, fazla miktarda birden alımın ya da az miktarda uzun süreli alımların şiddetli ve öldürücü olabileceği bildirilmiştir. (25). Aflatoxin B₁ için öldürücü doz 0,5-10,0 $\mu\text{g/kg}$ arasında olup piliçler için değer 6,5 $\mu\text{g/kg}$ düzeyindedir (18). Kanatlı metabolizmasına etkisi yemde >625 ppb ile sınırlandırılmıştır (13).

Sonuç olarak, yemle değişik miktarda AF alımının broylerlerde alım süresine bağlı olarak karaciğer ve serum vitamin A değerlerini önemli derecede etkilediği, en etkili miktar ve sürenin karaciğer vitamin A değerleri açısından 1000 ppb ve 30 gün (en düşük karaciğer vitamin A değeri 14.98 ± 1.86 ppm bu grupta); serum vitamin A değerleri açısından ise, 500 ve 1000 ppb ve 15. ve 45. günler olduğu (en düşük serum vitamin A değerleri sırasıyla 17.34 ± 2.43 ve $14.72 \pm 2.75 \mu\text{g/dl}$ ile bu gruplarda) gözlenmiş ve örtüşen bulgular dikkate alınarak, yem ile 1000 ppb AF alımının karaciğer vitamin depolanmasını bozucu etki yönünden 30. günden itibaren etkili olduğu ancak az miktarlarda uzun süreli alımların da etkili olabileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Altıntaş A, Fidancı UR (1993): *Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal değerleri*. AÜ Vet Fak Derg, **40**, 173-186.
2. Bryden WL, Cumming RB, Balnave D (1979): *The influence of vitamin A status on the response of chickens to aflatoxin B₁ and changes in liver lipid metabolism associated with aflatoxicosis*. Br J Nutr, **41**, 529-540.
3. Dalvi RR (1986): *An overview of aflatoxicosis of poultry: Its characteristics, prevention and reduction*. Vet Res Commun, **10**, 429-443.
4. Demet Ö, Oğuz H, Adıgüzel H (1995): *Pirinçte aflatoxin üretimi*. Vet Bil Derg, **11**, 135-140.
5. Doerr JA, Huff WE, Wabeck CJ, Chaloupka GW, May JD, Merkley JW (1983): *Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens*. Poultry Sci, **62**, 1971-1977.

6. **Edds GT** (1973): *Acute aflatoxicosis. A review.* J Amer Vet Med Assoc, **162**, 304-309.
7. **Esrada Y, Domingo M, Gomez J, Calvo MA** (1992): *Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin B₁ in broiler chickens.* Res Vet Sci, **53**, 275-279.
8. **Fernandez A, Verde MT, Gascon M, Ramos J, Gomez J, Luco DF, Chavez G** (1994): *Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin-containing feed.* Avian Pathol, **23**, 37-47.
9. **Giambrone JJ, Diener UL, Davis ND, Panangala VS, Hoerr FJ** (1985): *Effects of aflatoxin on young turkeys and broiler chickens.* Poultry Sci, **64**, 1678-1684.
10. **Grys S** (1980): *Indirectly spectrophotometry on vitamin A products: Peak signal Readout.* Methods Enzymol, **67**, 195-199.
11. **Guerre P, Galtier P, Burgat V** (1996): *Les aflatoxicoses chez l'animal: des manifestations cliniques aux mecanismes d'action.* Rev Med Vet, **147**, 497-518.
12. **Hamilton PB** (1977): *Interrelationships of mycotoxins with nutrition.* Fed Prod, **36**, 1899-1902.
13. **Hamilton PB, Garlich JD** (1971): *Aflatoxin as a possible cause of fatty syndrome in laying hens.* J Poultry Sci, **50**, 800-804.
14. **Huff WE, Doerr JA** (1981): *Synergism between aflatoxin and ochratoxin A in broiler chickens.* Poultry Sci, **60**, 550-555.
15. **Huff WE, Harvey RB, Kubena LF** (1988): *Toxic synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler Chickens.* Poultry Sci, **67**, 1418-1423.
16. **Huff WE, Kubena LF, Harvey RB, Corrier DE, Mollenhauer HH** (1986): *Progression of aflatoxicosis in broiler chickens.* Poultry Sci, **65**, 1891-1899.
17. **Kaya S** (1989): *Yem ve besinlerdeki mikotoksinler: İnsan ve hayvan sağlığı için önemleri.* AÜ Vet Fak Derg, **36**, 226-253.
18. **Kaya S, Şanlı Y, Özkazaç AN** (1985): *Küflenmekten şüpheli yem ve yem hammaddelerinde aflatoksinler.* AÜ Vet Fak Derg, **32**, 1-12.
19. **Kaya S, Şanlı Y, Yarsan E, Özsoy A, Akkaya R, Bilgili A** (1996): *Çok yönlü hayvan yemlerinin üretiminde karma yem ve yem hammaddelerinden kaynaklanan olumsuzluk faktörlerinin araştırılması. I. Türkiye'de üretilen veya ithal edilen yem ve yem hammaddelerinin mikotoksinlerle kirlenme durumunun araştırılması.* Etlik Vet Mikrobiol Derg, **8**, 59-80.
20. **Kriz, H** (1970): *The effects of aflatoxins on the vitamin A storage in the livers of chickens.* Acta Vet Brno, **39**, 131-134.
21. **Kutsal A, Alpan O, Arpacık R** (1990): *Istatistik Uygulamalar.* Bizim Büro Basımevi, Ankara.
22. **Madden UA, Stahr HM** (1999): *The effect on performance and biochemical parameters when soil was added to aflatoxin-contaminated poultry rations.* Vet Human Toxicol, **41**, 213-221.
23. **Merkley JW, Maxwell RJ, Phillips JG, Huff WE** (1987): *Hepatic fatty profiles in aflatoxin-exposed broilers chickens.* Poultry Sci, **66**, 59-67.
24. **Newberne PM** (1973): *Chronic aflatoxicosis.* J Amer Vet Med Assoc, **163**, 1262-1267.
25. **Newberne PM, Butler WH** (1969): *Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals.* Cancer Res, **29**, 236-250.
26. **Özkazaç N, Russel-Sinn H, Şanlı Y, Kaya S** (1992): *Türkiye'nin değişik bölgelerinde üretilen karma yem ve yem hammaddelerinin mikotoksinlerle kirlenme durumunun incelenmesi.* AÜ Vet Fak Derg, **39**, 268-290.
27. **Quezada T, Cuellar H, Jaramillo-Juarez F, Valdivia AG, Reyes JL** (2000): *Effects of aflatoxin B₁ on the liver and kidney of broiler chickens during development.* Comp Biochem Physiol Part C, **125**, 265-272.
28. **Roche:** *Vitaminler. Vitaminlerin Özellikleri, İnsan ve Hayvan Beslenmesindeki Önemi.* Roche Müstahzarları Sanayi limited Şti, İstanbul.
29. **Salmanoğlu B** (2002): *Broyler civcivlerde aflatoksin B₁'in karaciğerin vitamin A depolaması üzerine etkisi.* Turk J Vet Anim Sci (yayında).
30. **Santurio JM, Mallmann CA, Rosa AP, Appel G, Heer A, Dageforde S, Böttcher M** (1999): *Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins.* Brit Poultry Sci, **40**, 115-119.
31. **Shatwell DL, Hesseltine CW, Stubblefield RD, Sorenson WG** (1966): *Production of aflatoxin on rice.* Appl Microbiol, **14**, 425-428.
32. **Siller W, Ostler DC** (1961): *The histopathology of an enterohepatic syndrome of Turkey poults.* Vet Rec, **73**, 134-138.
33. **Smith JW, Hamilton PB** (1970): *Aflatoxicosis in the broiler chicken.* Poultry Sci, **49**, 207-215.
34. **Smith JW, Pill CH, Hamilton PB** (1971): *The effect of dietary modifications on aflatoxicosis in the broiler chicken.* Poultry Sci, **50**, 768-774.
35. **Suzuki JI, Katoh N** (1990): *A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer.* Jpn J Vet Sci, **52**, 1281-1283.
36. **Swenson DH, Miller EC, Miller JA** (1974): *Aflatoxin B₁-2,3-oxide: Evidence its formation in rat liver in vivo and by human liver microsomes in vitro.* BBRC, **60**, 1036-1043.
37. **Şanlı Y, Ceylan S, Kaya S** (1982): *Tavuk yemlerine ve yem ilkel maddelerinde aflatoksinler.* AÜ Vet Fak Derg, **29**, 473-492.
38. **Tekpetey FR, Palmer WM, Ingals JR** (1987): *Seasonal variation in serum beta-carotene and vitamin A and their association with postpartum reproductive performance of holstein cows.* Can J Anim Sci, **67**, 477-489.
39. **Thaxton JP, Tung HT, Hamilton PB** (1974): *Immunosuppression in chickens by aflatoxin.* Poultry Sci, **53**, 721-725.
40. **World Health Organization** (1979): *Environmental health criteria. 11. Mycotoxins.* WHO Publications, Geneva.
41. **Wyatt RD, Briggs DM, Hamilton PB** (1973): *The effect of dietary aflatoxin on mature broiler males.* Poultry Sci, **52**, 1119.

Geliş tarihi: 18.4.2002 / Kabul tarihi: 2.5.2002

Yazışma adresi:

Prof. Dr. Arif Altıntaş
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı, 06110 Ankara
e-posta: altintas@veterinary.ankara.edu.tr