

WANDA BORZEMSKA, GRAŻYNA KOSOWSKA, HENRYK MALEC*,
WOJCIECH PIUSIŃSKI, JOZEF NIEZGODA**, LIDIA MALEC*

Próby ustalenia szkodliwości nasion przytulii czepnej (*Galium aparine* L.) w teście biologicznym na zarodkach i pisklętach kurzych

Zakład Chorób Drobii i Katedra Patologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,

ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa
* Zakład Wylęgu Drobii Kieleckich Zakładów Drobiarskich,
ul. Słoneczna 1, 26-030 Suchedniów

** Katedra Fizjologii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR,
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Summary

Attempts to establish the toxicity of *Galium aparine* seeds using a biological test, i.e. chick embryos and chickens

The purpose of the work was to establish the toxicity of *Galium aparine* seeds for hens. For examinations there were used 6 day old embryos and 1 day old chickens. An aqueous solution of the seeds at a dose of 8.7 mg was added to protein administered orally. The dose for chickens was 20 mg per day in a PBS solution. There was found a decrease of hatch at 6.1% ($p < 0.01$). There was stated a lowered body weight of dead embryos on an average at 18% ($p < 0.01$) associated mainly with lack of protein utilization ($p < 0.01$). In the plasma of chickens which were given in the period of embryonic life the suspension of the seeds there was found a decreased level of total protein ($p < 0.05$) and immunoglobulins ($p < 0.01$). In chickens which received the suspension of the seeds after hatching there was noted a lowered level of immunoglobulins ($p < 0.05$) and necrotic foci in the heart and the destruction of the epithelium of intestinal villi.

Problem toksyczności ziaren przytulii czepnej (*Galium aparine* L.) dla drobiu ujawnił się w ostatnim dziesięcioleciu po zwiększeniu udziału komponentów krajowych w mieszankach paszowych. Do podjęcia badań inspirowa opinie terenowej służby wet. oraz przekonania producentów drobiu. Normy Paszowe (12) nie uwzględniają ziaren przytulii jako zanieczyszczeń szkodliwych.

Nie zauważono szkodliwości domieszek tych nasion dla kaczek. Koncicki i wsp. (5) nie stwierdzili ujemnego wpływu ziaren przytulii na zdrowotność i efekty produkcyjne indycząt. Natomiast odmienne wyniki badań obserwowano u kurcząt. Musielak (9, 10) wykazał w próbie biologicznej na pisklętach różnicowany ich wzrost do 10 dnia życia i zwiększoną liczbę padnięć. Obserwacje te zostały potwierdzone przez Januszewskiego i wsp. (3, 4) oraz Mazurkiewicza i wsp. (8). Obok zahamowania wzrostu u kurcząt (3) opisano powiększenie wola i wychudzenie u 12 tyg. kurek Astra S karmionych mieszanką zawierającą 0,68% nasion przytulii. Nie obserwowano natomiast objawów chorobowych u 4 tyg. kogutków WR, chociaż notowano zmiany hematologiczne i we frakcjach białkowych krwi obwodowej. Równocześnie nie udało się ustalić innej przyczyny zmian chorobowych. Przypuszcza się, że szkodliwość ziaren przytulii wiąże się z mechanicznym uszkodzeniem błony śluzowej przewodu pokarmowego, w mniejszym zaś stopniu z jej składem chemicznym.

Celem badań była próba ustalenia szkodliwości nasion przytulii w teście biologicznym na zarodkach i pisklętach kurzych.

Materiał i metody

Próbie biologiczną na zarodkach przeprowadzono wg własnej metody przez podanie wodnej zawiesiny z nasion

przytulii do białka jaja przed okresem wykorzystania go drogą *per os* przez zarodek. Szczegółowej analizie embriopatologicznej poddano zarodki zamarte po okresie, w którym fizjologicznie kończy się proces wykorzystania białka (16 dzień inkubacji). Test biologiczny na pisklętach przeprowadzono w pierwszych 48 h po wylęgu, podając *per os* wodną zawiesinę nasion przytulii.

Nasiona przytulii. Nasiona pozyskano z pszenicy przeznaczonej do karmienia kur. Po oczyszczeniu i zmieleniu sporządzono zawiesinę w roztworze fizjologicznym, przeznaczając 8,7 mg (1 ziarno) w 0,2 ml zbuforowanego roztworu soli fizjologicznej (PBS — WSis Lublin) na zarodek i 20 mg w 0,5 ml PBS na pisklę. Do zawiesiny oraz do roztworu przeznaczonego do kontroli na zarodkach dodano antybiotyki.

Jaja wylęgowe i przebieg lęgu. Do badań użyto jaj wylęgowych od kur Astra B w 24 tyg. produkcji. Czas lęgu (h) oceniono od 6-go dnia inkubacji do zakończenia lęgu, a czas klucia (h) od naklucia do wyjścia ze skorupy wg wcześniej opracowanych metod (1). Wyniki wylęgu (%) podano w stosunku do jaj nałożonych i zarodków 6-dniowych.

Zarodki. Do próby użyto 2575 zarodków 6-dniowych, które lężono w inkubatorze Reform-Poldrob. Przed zabiegiem rozdzielono je na 3 grupy: I — 886 zarodków, którym zawiesinę podano w iniekcji do białka w ostrym końcu jaja, między błonami omocznymi w strefie wolnej od naczyń krwionośnych. Po 30 min. od zaklejenia otworu parafiną jaja odwrócono i wstawiono do inkubatora; II — 888 zarodków, którym w analogiczny sposób podano PBS; III — 801 zarodków przeznaczonych do kontroli.

Obserwacje embriopatologiczne. Do badania przeznaczono zarodki zamarte. Odnotowano wiek zamierania zarodków oraz rodzaj i stopień ich uszkodzenia wg metody podanej poprzednio (1, 2). Wady ułożenia zarodków w jaju oceniono wg Marshalla (7).

Pisklęta. Do testu biologicznego na pisklętach użyto 20 kurcząt, które podzielono na 2 grupy: A — której podano wodny roztwór z nasion przytulii, B — pisklęta kontrolne. Po 48 h obserwacji pisklęta skrwawiono i pobrano m. sercowy, wątrobę, śledzionę, grasicę, torbę Fabrycjusza, nerki i przewód pokarmowy do rutynowych badań histopatologicznych.

Badanie wskaźników biochemicznych. Po 48 h od zakończenia wylęgu pobrano po 10 piskląt z grupy I i III oraz wszystkie pisklęta z grupy A i B w celu określenia poziomu białka ogólnego (B_0) i immunoglobulin (Ig) w osoczu krwi. Badanie przeprowadzono metodą Słobodzińskiego i wsp. (cyt. 1).

Opracowanie statystyczne. Udział zmian patologicznych w zarodkach został obliczony testem jednorodności prób przy różnej ich liczebności. Wyniki wylęgu obliczono metodą Laughlina i wsp. (6). Wyniki wskaźników biochemicznych opracowano testem t-Studenta.

Wyniki i omówienie

W przeciwieństwie do ssaków zarodki ptasie nie mają możliwości filtrowania toksyn przez organizm matki. Daje to podstawę do uznania zaproponowanej metody jako przydatnej do oceny szkodliwości czynników toksycznych.

Z badań wynika, że dobiłkowe podanie 6-dniowym zarodkom zawiesiny z nasion przytulii czepnej miało wpływ na obniżenie wyników wylęgu i jakości piskląt. W grupie I wylęgło się w prawidłowym czasie 79,1%

Tab. 1. Stopień uszkodzenia (%) i liczba zmian patologicznych zarodków 16–20-dniowych, masa ciała (g) zarodków 19–20-dniowych oraz wyniki wylęgu piskląt (%)

Grupa	Stopień uszkodzenia zarodków			Liczba zmian patologicznych/zarodek		Masa ciała x	Wylęg z	
	I	II	III	\bar{x}	$\pm s$		jaj nałożonych	zarodków 6-dniowych
I	6,5	48,4	45,1	4,27 ^a	2,19	29,6 ^a	—	79,1 ^a
II	49,0	42,8	8,2	1,97 ^b	1,5	36,1 ^b	—	85,2 ^b
III	32,0	68,0	0	2,06 ^b	1,1	—	83,8	94,1 ^c

Objaśnienia: a, b, c — średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p < 0,01$; porównanie wszystkich grup między sobą.

piskląt, tj. o 6,1% mniej niż w grupie II, której podawano PBS (tab. 1). Obniżenie wylęgu było spowodowane zwiększoną zamieralnością zarodków, które obumierały równomiernie przez cały okres inkubacji. Natomiast w kontrolnej grupie II zanotowano 5 dni, a w grupie III 6 dni wolnych od strat. Nie było natomiast różnic w liczbie piskląt wybrakowanych, czasie lęgu i czasie klucia.

Zmiany patologiczne w zarodkach zamarych w grupie I istotnie różniły się od grup kontrolnych II i III (tab. 2). Większa liczba zarodków nie wykorzystwała białka ($p < 0,01$), co w konsekwencji spowodowało niższą masę embrionów (tab. 1) średnio o 6,5 g (18% masy ciała). Występowały także inne zmiany patomorfologiczne, szczególnie uszkodzenie narządów mięsaszowych, krwotoki z naczyń owodni oraz wady ułożenia. Wg klasyfikacji Marshalla (7) obserwowano w stosunku do obu grup kontrolnych pojawienie się wady VII (w poprzek jaja), IV (skręt) oraz wady I (dziób w kierunku wentralnym), która jest cechą opóźnionego rozwoju. Należy zaznaczyć, że wadę ułożenia VII, którą w prawidłowym odpadzie powylęgowym odnotowuje się bardzo rzadko obserwowano wcześniej u zarodków pochodzących od kur karmionych paszą skażoną ochratoksyną (11). Zwiększała się również liczba odchyłeń od normy u poszczególnych embrionów, co powodowało wyższy stopień ich uszkodzenia (tab. 1), charakterystyczny dla lęgów patologicznych.

Przez 48 h obserwacji piskląt, którym podano wodny roztwór przytulii nie obserwowano objawów klinicznych. Daje to podstawę do stwierdzenia, że nasiona przytulii nie mogą być powodem ostrych zatruc. U wszystkich piskląt skrwawionych obserwowano je-

dynie znaczne powiększenie i odbarwienie m. sercowego. Natomiast w badaniu histomorfologicznym ujawniło zmiany w m. sercowym i dwunastnicy.

Tab. 2. Udział zmian patologicznych w zarodkach zamarych 16–20-dniowych (%)

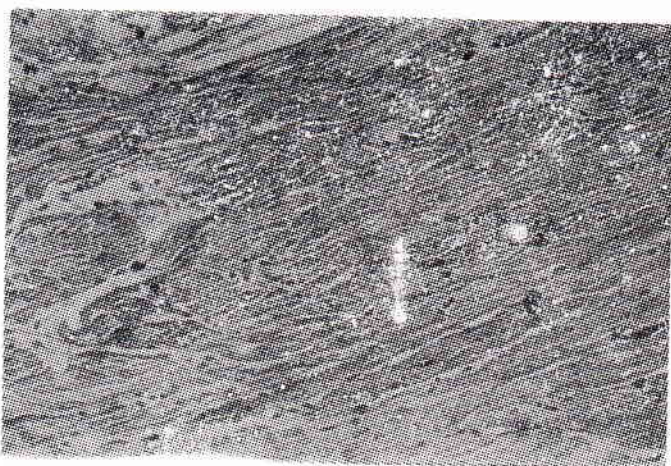
Zmiany patologiczne	Grupa		
	I	II	III
Niewykorzystane białko	33,3 ^{Aa}	9,09 ^B	10,7 ^b
Uszkodzenie narządów mięsaszowych	66,67 ^A	50,91	32,14 ^B
Zahamowanie w rozwoju	62,32 ^{Aa}	30,91 ^B	39,29 ^b
Wody płodowe krwiiste i krwotoki podskorupowe	23,19 ^A	12,73 ^A	14,29 ^A
Wady ułożenia i zapętlenie	62,31 ^A	36,36 ^A	50,0 ^A
Inne	73,91 ^A	10,91 ^B	10,71 ^B

Objaśnienia: A, B, a, b — średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie: małymi przy $p < 0,05$, dużymi przy $p < 0,01$.

Tab. 3. Poziom białka ogólnego (B_0) i immunoglobulin (Ig) w osoczu krwi piskląt (g/100 ml)

Grupa	B_0	Ig
I	2,50 [*]	0,75 ^{**}
III	3,83	2,46
A	2,46	0,76 [*]
B	2,74	1,35

Objaśnienia: * — istotność różnic przy $p < 0,05$, ** — przy $p < 0,01$; porównanie pomiędzy gr. I i III oraz A i B.



Ryc. 1. Ognisko martwicowe w mięśniu sercowym. Barw. met. HE



Ryc. 2. Uszkodzenie nabłonka kosmków jelitowych. Barw. met. HE

W mięśniu sercowym, obok tkanki o budowie prądkowej w okolicy pod wsierdziem i w części środkowej mięśni komórek widoczne, były rozległe ogniska o budowie zatartej (ryc. 1). Włókna mięśniowe w zmienionych ogniskach wykazywały brak prążkowania, niekiedy ziarnisty rozpad sarkoplazmy lub fragmentację o wyglądzie różowych, homogennych części komórek. W niektórych komórkach występowały nieliczne wodniczki. Niekiedy obserwowano wypłukanie sarkoplazmy z pozostawieniem obrysów włókien w postaci zachowanej sarkolemmy.

W dwunastnicy w niektórych kosmkach obserwowano cechy uszkodzenia nabłonka pokrywającego kosmki aż do jego zniszczenia. Same kosmki wykazywały obkurczenie i nierówny kształt (ryc. 2).

W wątrobie, nerkach, śledzionie, grasicy i torbie Fabrycjusza kurcząt doświadczalnych oraz we wszystkich narządach piskląt kontrolnych nie stwierdzono zmian histomorfologicznych o cechach uszkodzenia.

W badaniach biochemicznych osocza piskląt, które otrzymały zawiesinę z przytulii w okresie zarodkowym (grupa I) stwierdzono niższy poziom białka ogólnego ($p < 0,05$) i immunoglobulin ($p < 0,01$). U piskląt, którym podano zawiesinę po wyłegu (grupa A) istotną różnicę ($p < 0,05$) zauważono w poziomie immunoglobulin (tab. 3).

Reasumując należy stwierdzić, że spożycie nasion przytulii czepnej jest dla kur nieobojętne, szczególnie

w młodym wieku, co wcześniej stwierdzili Mazurkiewicz i wsp. (8). Szkodliwość tych nasion polega głównie na obniżeniu naturalnej odporności ptaków. Nie można także wykluczyć, że obserwowane przez Musielaka (9, 10) padnięcia kurcząt karmionych przez dłuższy okres paszą zanieczyszczoną nasionami przytulii były spowodowane ujawnionymi uszkodzeniami m. sercowego. Wydaje się zatem celowe zweryfikowanie normy zanieczyszczeń tego chwastu w paszy dla piskląt kurzych.

Piśmiennictwo

1. Borzemska W., Niedziółka J., Niezgoda J., Szeleszczuk P.: *Medycyna Wet.* 46, 9, 1990.
2. Borzemska W., Piusiński W., Malec H., Niedziółka J.: *Medycyna Wet.* 46, 103, 1990.
3. Januszewski J., Gawel A., Koźlik D., Madej J. A., Mazurkiewicz M.: *Materiały VI Symp. Drob. Polanica-Zdrój* 39, 1988.
4. Januszewski J., Lewandowski L., Mazurkiewicz M.: *Medycyna Wet.* 44, 365, 1988.
5. Koncicki A., Krasnodębska-Depta A., Rotkiewicz T.: *Medycyna Wet.* 45, 15, 1989.
6. Laughlin K. F., Lundy H.: *Br. Poult. Sci.* 17, 1, 1976.
7. Marshall W.: *VIII World's Poult. Congr. Kopenhaga* 1, 336, 1948.
8. Mazurkiewicz M., Gawel A., Koźlik D., Januszewski J., Madej J.: *Zeszyty Nauk. AR, Weterynaria, Wrocław* (w druku).
9. Musielak B.: *Drobnarstwo* 36, 14, 1988.
10. Musielak B.: *Zycie Wet.* 64, 12, 1989.
11. Niemiec J., Borzemska W., Roszkowski J., Karpińska E.: *Arch. Geflügelk.* 54, 70, 1990.
12. Norma branżowa: Mieszanka zbożowa BN-669131-06, M. R. 1966

Adres autora: prof. dr hab. Wanda Borzemska, ul. Perzyskiego 3 m. 18, 01-872 Warszawa

TADEUSZ ROTKIEWICZ, ZOFIA ROTKIEWICZ *

Wpływ dożołądkowego podawania roztworu HCl prosiętom osekcom na obraz patomorfologiczny błony śluzowej i zachowanie się mikroflory żołądka i dwunastnicy*)

Zakład Anatomii Patologicznej, * Katedra Mikrobiologii Weterynaryjnej Wydziału Weterynaryjnego AR-T, Kortowo, 10-977 Olsztyn

Summary

The effects of intragastrically administered HCl on the population of microflora and pathomorphological alterations of mucous membranes of stomach and duodenum in piglets

The investigations were carried out on 60 piglets divided into 5 groups of age from 6 h to 14 days. The piglets of experimental groups (C, D, E) were intragastrically administered 0.13% solution of HCl. The HCl was administered on day 3 to group C, 7th day to group D and 16th day to group E daily up to 14 days. At 14th day all the piglets were slaughtered and tissues from stomach and duodenum were collected and processed for macroscopic histopathologic, histochemical, microbiological and for scanning and transmission electron microscopic study.

The short time (group E) administration of HCl produced no morphological changes in the mucous membranes of the stomach and duodenum, but the strong time (groups C and D) administration of HCl produced deformation and desquamation of the epithelium of duodenal villi. There was increased production of mucin and decreased activities of lactic and succinate dehydrogenases on the surface of mucous membranes and endocrine cells were also stimulated. Microbial counts of stomach showed decreased counts of haemolytic strains of *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Micrococcus* and increased counts of *Saccharomyces* were observed in experimental piglets.

Prosięta rodzą się z dobrze wykształconym przewodem pokarmowym, przystosowanym do wchłaniania immunoglobulin z siary i trawienia mleka. Gruczoły żołądkowe podejmują czynność wydzielniczą po pobraniu pokarmu, lecz nie wszystkie komórki tych gruczołów są przygotowane w jednakowym stopniu do tej czynności (3, 7). Najpóźniej podejmują czynność wydzielniczą komórki okładzinowe (3), co powoduje niedobór kwasu solnego w soku żołądkowym w pierwszych dniach życia prosiąt. Pojawiający się w tym czasie kwas solny w niewielkich ilościach jest neutralizowany przez ślinę, mleko, śluz żołądkowy, żółć i sok trzustkowy (2, 13, 18). Zmniejszona kwasowość żołądka sprzyja zasiedlaniu przewodu pokarmowego drobnoustrojami niezbędnymi do prawidłowego funkcjonowania (2, 4, 8, 9, 22, 23, 31), ale także dostawaniu się drobnoustrojów chorobotwórczych, które mogą powodować określone schorzenia prosiąt.

Celem niniejszej pracy było prześledzenie zmian morfologicznych, histochemicznych, ultrastrukturalnych i składu mikroflory żołądka i dwunastnicy pro-

*) — praca wykonana w ramach programu CPBR 10.17/IV.