

## ANTINUTRITIVNI I TOKSIČNI UČINCI NITRILA IZ REPIČINE SAČME NA PILIĆE

## ANTINUTRITIVE AND TOXIC EFFECTS OF NITRILES FROM RAPESEED MEAL ON CHICKENS

J. Žust, A. Vengušt, U. Pestevšek, Manca Černe

Izvorni znanstveni članak  
UDK: 636.5.; 636.085.19  
Primljeno: 28. listopada 1999.

### SAŽETAK

Obavljena su istraživanja o utjecaju nitrila iz repičine sačme na antinutritivno i zdravstveno stanje brojlerskih pilića. Nitril 1-ciano-2-hidroksi-3-buten autori su izolirali iz komercijalne repičine sačme s metilenkloridom. U pokusu su bile tri skupine po 52 pilića. Pokusna skupina pilića dobivala je s krmnom smjesom nitrile u koncentraciji 20 mmol/kg. Prva kontrolna skupina hranjena je restriktivno s jednakom količinom krmne smjese kao pokusna skupina, a druga kontrolna skupina ad libitum. Pilići su žrtvovani 7., 11., 14. i 28. dan pokusa.

Rezultati su pokazali da je tjelesna masa pokusnih pilića u pojedinim razdobljima bila oko 30% manja od kontrolne skupine pilića koja je dobivala krmnu smjesu ad libitum. Razlike u tjelesnim masama bile su statistički značajne ( $P < 0,05$ ). Restriktivno hranjeni pilići koji su dobivali jednaku količinu krmne smjese kao pokusna skupina bili su od 4 do 9% teži, što ukazuje na slabiju konverziju krmne smjese u nitrilnoj skupini pilića. Dodatak nitrila doveo je do statistički značajnog povećanja mase jetre i koncentracije aspartat aminotrasferaze (AST) i kreatinin kinaze (CT) u krvnom serumu ( $P < 0,05$ ). Histološkom pretragom nađena je pojedinačno parenhimska degeneracija i veća dioba jezgara hepatocita. Statistički značajne promjene utvrđene su također u masama štitnjače. Tireostatični učinci nitrila bili su slabiji od učinaka običnih razgradnih produkata glukozinolata. Na bubrezima testne skupine pilića utvrđena je obimna degeneracija i deskvamacija epitela tubula i krvarenja u intersticiju. Teže kliničke i patomorfološke promjene na ekstremitetima testne skupine nađene su kod 22 (42,3%) od ukupno 52 pokusna pilića, dok su svi pilići u obe kontrolne skupine bili zdravi. Najizrazitije promjene nađene su na distalnom dijelu tibiotarsusa i proksimalnom dijelu tarsometatarsusa gdje je došlo do jednostranog ili obostranog lateralnog otklona ili valgus stava nogu s većom ili manjom dislokacijom tetive muskulusa gastrocnemiusa te do izrazitih poteškoća u kretanju pilića.

Prof. dr. Janko Žust, red. prof., Dr. Anton Vengušt, viši znan. sur., Prof. dr. Uroš Pestevšek, izv. Prof., Dr. Manca Černe, asist., Veterinarski fakultet, Ljubljana, Gerbičeva 60, Slovenija.

Na osnovi provedenih istraživanja može se zaključiti da neobični razgradni produkt tireostatičnih glukozinolata 1-ciano-2-hidroksi-3-buten do kojeg dolazi pod određenim uvjetima kod tehnološke prerade uljane repice može, pored dobro poznatih štetnih učinaka - smanjene palatibilnosti krme, oštećenja jetre, tireostatičnog djelovanja i promjene u organoleptici živežnih namirnica - dovesti i do težeg oštećenja bubrega te do smetnji u endohondralnoj osifikaciji dugih kostiju ekstremiteta.

## UVOD

Među prirodnim štetnim tvarima koje se nalaze u krmivima najznačajniji su nitrati i nitriti, fitoestrogeni, cianogeni glukozidi, proteazni inhibitori, lektini, antigeni proteini, gosipol te posebno tireostatični glukozinolati, koje sadrži repičina sačma i brojne druge biljke iz familije križnica (Wiesner, 1970., Pusztai, 1989., D'Mello i Duffs, 1991.). Glukozinolati u repičinoj sačmi nisu toksični. Štetno djeluju njihovi razgradni produkti - aglukoni koji se stvaraju pomoću enzima tioglukozidaze. Izotiocianati, viniltiooksazolidon i tiocianati su obično najvažniji produkti hidrolize (Fenwick i Curtis, 1980., Bell, 1984., Vermorel i sur., 1988.). Njihovi štetni učinci vezani su uz manju palatibilnost, antitireoidnu aktivnost, hemoragije u jetri i na promjene u organoleptici živežnih namirnica životinjskog izvora. Osim običnih razgradnih produkata mogu u određenim prilikama iz glukozinolata nastati i nitrili (Paik i sur., 1980., Gould i sur. 1985., Fenwick i sur., 1986., Žust i sur., 1993.). Dosadašnja istraživanja su pokazala da je stvaranje nitrila povezano s niskim pH vrijednostima substrata i prisutnošću iona nekih metala, naročito željeza i bakra. Patološke promjene prouzrokovane nitrilima djelomično su poznate na laboratorijskim životinjama, dok su istraživanja utjecaja tih tvari kod domaćih životinja tek na početku.

U ovom radu opisani su rezultati antinutritivnog i toksičnog djelovanja nitrila 1-ciano-2-hidroksi-3-butena, koji su izolirani iz repičine sačme na prirast pilića, na štitnjaču, jetru, Bursu Fabricius i posebno na pojavljivanje bolesti ekstremiteta.

## MATERIJAL I METODA RADA

Antinutritivne i patološke učinke nitrila 1-ciano-2-hidroksi-3-butena testirani su u pokusu s tri sku-

pine brojlerskih pilića tipa Ross. Pregled pokusnih skupina i trajanje pokusa prikazani su na tablici 1. Prije klanja životinjama je uzeta krv za biokemijske analize. Nakon egzenteracije voljke, želuca, crijeva i jetre utvrđena je egzenterirana ili čista masa pilića koji su upotrijebljeni za izračunavanje relativne mase pojedinih organa. Promjene na ekstremitetima ocjenjivane su subjektivno. Teške promjene označene su s (+++), srednje s (++), manje s (+) i bez promjena s (-). Za utvrđivanje morfoloških karakteristika kosti nogu potpuno su očišćene od mišića i vezivnog tkiva. Na femuru, tibiotarzus i tarzometatarzus izmjerene su s noniusom dužina, proksimalna i distalna širina epifize te širina diafize. Tibiotarzus lijeve noge upotrijebljene su za analizu na sadržaj pepela i minerala u kostima. Desne noge i organe za histološku pretragu fiksirani su u 10% formalinu.

**Tablica 1. Nacrtni pokusa**  
**Table 1. Experiment design**

Skupina - Group	Starost žrtvovanih pilića (dani) Age of chicken when sacrificed (days)				
		7	11	14	28
Kontrolna - Control (Restriktivno hranjena Restrictively fed)	n=	12	8	22	10
Pokusna - Experimental (Dodatak nitrila - nitrile)	n=	12	8	22	10
Kontrolna - Control (Hranjena ad libitum Fed ad libitum)	n=	12	8	22	10
Ukupno - Total	n=	36	24	66	30

**Tablica 2. Sastav i rezultati kemijske analize krmnih smjesa za piliće****Table 2. Formulation and chemical analyses of diets**

Kukuruz - Maize	%	53.9
Sojina sačma - Soybean meal	%	33.0
Riblje brašno - Fish meal	%	5.0
Biljno ulje - Vegetable oil	%	5.0
Dikalcij fosfat - Dicalcium phosphate	%	1.5
Kalcij karbonat - Limestone	%	0.6
Natrij klorid - Salt	%	0.3
Metionin - Methionine	%	0.2
Premiks - Premix	%	0.5
Suha tvar - Dry matter	%	89.5
Sirove bjelančevine - Crude proteins	%	22.3
Sirova mast - Crude fat	%	7.7
Pepeo - Ash	%	5.3
Škrob - Starch	%	38.0
Ca	g/kg	11.1
P	g/kg	8.4
Mg	g/kg	2.0
Na	g/kg	1.5
Zn	mg/kg	77
Mn	mg/kg	117
1-ciano-2-hidroksi-3buten	mmol/kg	20

Sve pokusne skupine dobivale su jednaku krmnu smjesu. Sastav i kemijska analiza krmne smjese dati su na tablici 2. Nitrili iz repičine sačme ekstrahirani su pomoću metilenklorida. Ekstrakt je dodan krmnoj smjesi testne skupine u koncentraciji 20 mmol/kg. Koncentracija nitrila utvrđena je plinskom kromatografijom pomoću standarda dobivenih od M.E. Daxenbichlera, US Department of Agriculture i infra crvenom spektroskopijom (IR). Pilići restriktivno hranjene kontrolne skupine dobivali su krmnu smjesu bez nitrila u jednakim količinama kao pilići pokusne skupine. Pilićima druge kontrolne skupine davana je krmna smjesa po volji. Analiza krmne smjese na sadržaj hranjivih tvari obavljena je Weende metodom, mineralne tvari određivane su pomoću atomske apsorpcijske spektrofotometrije, fosfor vanadatnom metodom te nitrile po metodi Paik i sur., 1980. Biokemijske analize krvnog seruma obavljene su analizatorom Cobas Mira. Statistička obrada izvršena je pomoću programskog paketa Statistical Package for the Social Sciences. Upotrijebljen je podprogram One Way i ANOVA.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Živa masa pilića pokusne i dviju kontrolnih skupina prikazana je na tablici 3. Prirast tjelesne mase kontrolne, po volji hranjene skupine bio je u svim razdobljima pokusa u skladu ili čak nešto bolji od standarda koje navodi tvrtka ROSS.

**Tablica 3. Proizvodni rezultati pilića (u gramima)****Table 3. Performance of chickens (in grams)**

Skupina - Group	Početak - Beginning	7. dana - day 7	11. dana - day 11	14. dana - day 14	28. dana - day 28
Restriktivna Restrictive	n=10	n=12	n=8	n=21	n=10
	43.3	130 <sup>a</sup>	204 <sup>a</sup>	306 <sup>a</sup>	867 <sup>a</sup>
	± 3.4	± 22	± 24	± 28	± 82
Nitrilna - Nitrile	n=10	n=12	n=8	n=22	n=10
	42.9	126 <sup>a</sup>	193 <sup>a</sup>	283 <sup>a</sup>	838 <sup>a</sup>
	± 2.0	± 21	± 30	± 80	± 171
Ad libitum	n=10	n=12	n=7	n=21	n=10
	42.8	160 <sup>b</sup>	290 <sup>b</sup>	331 <sup>b</sup>	1147 <sup>b</sup>
	± 1.3	± 12	± 23	± 54	± 122

Brojevi označeni s različitim slovima statistički se značajno razlikuju na stupnju  $P < 0,05$

Values with different superscripts are significantly different ( $P < 0,05$ )

Iz usporedbe s nitrilnom grupom, koja je u krmnoj smjesi dobivala 20 mmol/kg nitrila, može se vidjeti da je masa ad libitum hranjenih pilića bila za oko 30% veća od mase pilića u pokusnoj skupini. Razlike među skupinama bile su statistički vrlo značajne. Manje, statistički neznčajne razlike bile su također utvrđene i između nitrilne i restriktivno hranjene skupine pilića, koji su bili teži u pojedinim razdobljima pokusa za 4 do 9%, što ukazuje na slabiju konverziju hrane kod pilića u nitrilnoj skupini. Slični rezultati u prirastu pilića utvrđeni su i kod usporedbe egzenteriranih masa pilića. Na temelju rezultata može se zaključiti da nitril 1-ciano-2-hidroksi-3 -buten u koncentraciji od 20 mmol/kg krmne smjese djeluje vrlo antinutritivno. Djelomično je antinutritivni učinak vezan i uz teškoće kod konzumacije krmne smjese zbog bolesti ekstremiteta i otežanog uzimanja vode i hrane.

Takvo stanje dovelo je do vrlo velike razlike u tjelesnim masama kod pojedinih pilića u pokusnoj skupini (tablica 3).

Antinutritivni učinci nitrila su veći od onih, koje prouzrokuju obični razgradni produkti tireostatičnih glukozinolata, kao što su viniltiooksazolidon i izotiocianati (Srivastava i sur., 1975., Žust i sur., 1993.).

Apsolutna i relativna masa jetre (preračunata na 1 kg egzenterirane mase pilića) prikazana je na tablici 4. Usporedba relativnih vrijednosti pokazuje da su jetra kod nitrilne skupine pilića statistički značajno veća. Na oštećenje jetre upućuju rezultati biokemijskih analiza krvnog seruma na aspartat aminotransferazu (AST) i kreatinin kinazu (CK), što su prikazani na tablici 5. Histološkim pretragama nisu utvrđena veća oštećenja jetre.

Tablica 4. Masa (A) i relativna masa (R) jetre pilića (u gramima)

Table 4. Liver weight (A) and relative liver weight (R) of chickens (in grams)

Skupina Group	Starost žrtvovanih pilića (dani) - Age of chickens when sacrificed (days)							
	7		11		14		28	
	A	R*	A	R*	A	R*	A	R*
Restriktivna Restrictive	n=12		n=8		n=21		n=10	
	4.9 <sup>a</sup>	50.9 <sup>a</sup>	8.0 <sup>a</sup>	49.2 <sup>ab</sup>	10.3 <sup>a</sup>	41.8 <sup>ab</sup>	26.5 <sup>ab</sup>	35.6 <sup>a</sup>
	±1.0	±5.7	±1.5	±3.1	±1.7	±5.5	±3.5	±3.7
Nitrilna Nitrile	n=12		n=8		n=22		n=10	
	5.2 <sup>a</sup>	56.2 <sup>b</sup>	8.3 <sup>a</sup>	53.3 <sup>b</sup>	10.2 <sup>a</sup>	45.2 <sup>b</sup>	22.6 <sup>a</sup>	34.7 <sup>a</sup>
	±1.0	±4.7	±1.2	±2.0	±2.9	±3.8	±5.7	±11.6
Ad libitum	n=12		n=7		n=21		n=10	
	6.4 <sup>b</sup>	52.4 <sup>ab</sup>	11.0 <sup>b</sup>	47.7 <sup>a</sup>	11.1 <sup>a</sup>	39.6 <sup>a</sup>	31.4 <sup>b</sup>	32.4 <sup>a</sup>
	±0.9	±6.1	±1.5	±3.5	±2.7	±4.1	±5.5 <sup>a</sup>	±7.7

Brojevi označeni različitim slovima među skupinama statistički se značajno razlikuju na stupnju (P<0,5)

Values with different superscripts between groups are significantly different (P<0.05)

\* Omjer između mase jetre i egzenterirane mase pilića x 1000

\* Liver weight to empty body weight ratio x 1000

Pojedinačno je nađena parenhimska degeneracija i veća dioba jezgara hepatocita. Iz rezultata se može razabrati da nitrili slično kao obični razgradni produkti glukozinolata utječu toksično na jetru pilića. Promjene na jetri povezane s glukozinolatima i

njihovim razgradnim produktima najbolje su istražene kod peradi, posebno nesilica (Yamashiro i Bast, 1978., Wight i sur., 1987.), a nađene su i kod svinja u tovu (Burdon i sur., 1985.) te kod laboratorijskih životinja (Vermorel i sur., 1987.).

**Tablica 5. Sadržaj aspartat aminotransferaze (AST) i kreatin kinaze (CK) u krvnom serumu pilića**

**Table 5. Concentration of aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase (CK) in blood serum of chickens**

Skupina - Group	AST	CK
	U/l	U/l
Restriktivna - Restrictive	n=42 114 <sup>a</sup>	n=42 895 <sup>a</sup>
	±23	±540
Nitrilna - Nitrile	n=52 144 <sup>b</sup>	n=43 1284 <sup>b</sup>
	±89	±683
Ad libitum	n=41 106 <sup>a</sup>	n=31 659 <sup>a</sup>
	±20	±253

Brojevi označeni različitim slovima među skupinama statistički se značajno razlikuju na stupnju (P<0.05)  
Values with different superscripts between groups are significantly different (P<0.05)

Statistički značajne razlike utvrđene su također u masama štitnjača pilića (tablica 6). Izolacija štitnjače kod malih pilića praktički je teško izvodljiva, zbog toga su na tablici dati samo rezultati za piliće, koji su bili žrtvovani 14. i 28. dana pokusa. Iz statistički značajnih razlika u masi štitnjače između nitrilne i kontrolnih skupina može se pretpostaviti i utvrditi tireostatične učinke nitrila. Ranija vlastita istraživanja su pokazala da je tireostatični učinak nitrila manji od tireostatičnog djelovanja običnih razgradnih produkata glukozinolata (Žust i sur., 1993.). Kod pilića nitrilne skupine nađena je također nešto manja prosječna masa Burse Fabricius. Razlike između skupina nisu bile statistički značajne. Za utvrđivanje eventualnog smanjenog imunskog odaziva povezanog s nitrilima potrebna bi bila dodatna istraživanja. Pored opisanih promjena na bubrezima testne skupine pilića nađena je obimna degeneracija i deskvamacija epitela tubula te brojna veća i manja krvarenja u intersticiju. To upućuje na nefrotoksično djelovanje nitrila i na putove njihove ekskrecije. O sličnim patološkim učincima nitrila na bubrege kod štakora i pilića izvješćuju Nishie i Daxenbichler, 1980. Gould i sur., 1985., što pored ostalog,

potvrđuje da je dominantna toksična komponenta u ekstraktu repičine sačme doista bila iz skupine nitrila.

**Tablica 6. Masa (A) i relativna (R) masa štitnjače (u miligramima)**

**Table 6. Thyroid gland weight (A) and relative (R) thyroid gland weight (in milligrams)**

Skupina Group	Starost žrtvovanih pilića (dani) Age of chickens when sacrificed (days)			
	14		28	
	A	R*	A	R*
Restriktivna Restrictive	n=20 17	n=10 72	n=10 63 <sup>a</sup>	n=10 86 <sup>a</sup>
	±11	±50	±10	±18
Nitrilna Nitrile	n=20 20	n=10 90	n=10 102 <sup>b</sup>	n=10 152 <sup>b</sup>
	±12	±47	±34	±37
Ad libitum	n=20 12	n=10 53	n=10 67 <sup>a</sup>	n=10 70 <sup>a</sup>
	±3	±11	±30	±30

Brojevi označeni različitim slovima među skupinama statistički se značajno razlikuju na stupnju (P<0.05)

Values with different superscripts between groups are significantly different (P<0.05)

\* Omjer između mase jetre i egzenterirane mase pilića x 1000

\* Liver weight to empty body weight ratio x 1000

Klinički najznačajnije promjene kod pokusne skupine pilića nađene su na ekstremitetima. Prve poteškoće u kretanju primijećene su na kraju prvog tjedna pokusa. Stupanj promjena bio je različit kod pojedinih životinja. Kod lakših slučajeva obično je došlo do poboljšanja u kasnijim razdobljima pokusa, a u težim slučajevima promjene su bile ireverzibilne. Klinička slika promjena bila je slična stanju kojeg u starijoj literaturi opisuju kao perozu. Od ukupno 52 pokusna pileta s težim ireverzibilnim promjenama na ekstremitetima (oznaka +++), oboljelo je 22, odnosno 42,3% životinja. Oboljeli pilići vrlo su se teško kretali i imali poteškoće kod uzimanja hrane i vode. Kod kontrolnih skupina pilića nisu primijećene nikakve promjene na ekstremitetima.

**Tablica 7. Masa (A) i relativna (R) masa suhe tvari tibiotarzusa (u gramima)**  
**Table 7. Weight (A) and relative (R) weight in dry matter of tibiotarsus (in grams)**

Skupina Group	Starost žrtvovanih pilića (dani) - Age of chickens when sacrificed (days)							
	7		11		14		28	
	A	R*	A	R*	A	R*	A	R*
Restriktivna Restrictive	n=12 0.29 <sup>a</sup> ±0.04	3.0 ±0.51	n=8 0.57 <sup>a</sup> ±0.08	3.5 ±0.22	n=21 0.84 <sup>ab</sup> ±0.14	3.4 ±0.43	n=10 3.09 <sup>b</sup> ±0.36	4.2 <sup>b</sup> ±0.3
Nitrilna Nitrile	n=12 0.27 <sup>a</sup> ±0.05	3.0 ±0.43	n=8 0.52 <sup>a</sup> ±0.08	3.4 ±0.28	n=22 0.77 ±0.19	3.5 ±0.42	n=10 2.42 <sup>a</sup> ±0.54	3.6 <sup>a</sup> ±0.2
Ad libitum	n=12 0.37 <sup>b</sup> ±0.04	3.0 ±0.25	n=7 0,81 <sup>b</sup> ±0.08	3.5 ±0.29	n=17 0.98 <sup>b</sup> ±0.21	3.5 ±0.45	n=10 3.65 <sup>c</sup> ±0.92	3.7 <sup>a</sup> ±0.6

Brojevi označeni različitim slovima među skupinama statistički se značajno razlikuju na stupnju (P<0.05)

Values with different superscripts between groups are significantly different (P<0.05)

\* Omjer između mase jetre i egzenterirane mase pilića x 1000

\* Liver weight to empty body weight ratio x 1000

**Tablica 8. Dužina (A) i relativna (R) dužina tibiotarzusa (u mm)**  
**Table 8. Length (A) and relative (R) length of tibiotarsus (in mm)**

Skupina Group	Starost žrtvovanih pilića (dani) - Age of chickens when sacrificed (days)							
	7		11		14		28	
	A	R*	A	R*	A	R*	A	R*
Restriktivna Restrictive	n=12 39 <sup>a</sup> ±2.2	419 <sup>a</sup> ±87	n=8 49 <sup>a</sup> ±2.1	304 <sup>b</sup> ±34	n=21 56 <sup>b</sup> ±1.4	228 <sup>a</sup> ±19	n=10 80 <sup>a</sup> ±2.5	109 <sup>b</sup> ±9
Nitrilna Nitrile	n=12 38 <sup>a</sup> ±2.3	426 <sup>a</sup> ±105	n=8 47 <sup>a</sup> ±2.3	307 <sup>b</sup> ±42	n=22 52 <sup>a</sup> ±3.2	230 <sup>a</sup> ±70	n=10 80 <sup>a</sup> ±4.5	123 <sup>b</sup> ±25
Ad libitum	n=12 43 <sup>b</sup> ±0.8	358 <sup>a</sup> ±27	n=7 52 <sup>b</sup> ±1.4	225 <sup>a</sup> ±18	n=17 56 <sup>b</sup> ±2.7	208 <sup>a</sup> ±38	n=10 88 <sup>b</sup> ±3.9	92 <sup>a</sup> ±12

Brojevi označeni različitim slovima među skupinama statistički se značajno razlikuju na stupnju (P<0.05)

Values with different superscripts between groups are significantly different (P<0.05)

\* Omjer između mase jetre i egzenterirane mase pilića x 1000

\* Liver weight to empty body weight ratio x 1000

**Tablica 9. Sadržaj pepela i minerala u suhoj tvari tibiotarzusa**  
**Tablica 9. Ash content and mineral composition in dry matter of tibiotarsus**

Skupina Group	Pepeo - Ash %	Ca g/kg	P g/kg	Mg g/kg	Zn mg/kg	Fe mg/kg
Restriktivna Restrective	n=47	n=47	n=47	n=47	n=40	n=40
	41.5	148 <sup>b</sup>	73	3.8 <sup>a</sup>	174	177 <sup>a</sup>
	±4.5	±17.5	±8.8	±0.5	±40	±39
Nitrilna - Nitrile	n=50	n=50	n=50	n=50	n=36	n=35
	41.8	140 <sup>a</sup>	73	3.6 <sup>a</sup>	163	177 <sup>a</sup>
	±3.5	±12.1	±8.4	±0.4	±35	±33
Ad libitum	n=51	n=51	n=51	n=51	n=50	n=50
	41.8	147 <sup>b</sup>	74	4.2 <sup>b</sup>	168	225 <sup>b</sup>
	±4.2	±13.6	±11.5	±1.0	±31	±68

Brojevi označeni različitim slovima među skupinama statistički se značajno razlikuju na stupnju ( $P < 0.05$ )  
 Values with different superscripts between groups are significantly different ( $P < 0.05$ )

Zbog pravilnog dijagnosticiranja promjena na ekstremitetima obavljena su morfološka mjerenja kosti, utvrđen je stupanj njihove mineralizacije određivanjem mase i kemijskom analizom tibiotarzusa te obavljena stereološka mjerenja epifizne hrskavice. Rezultati tih istraživanja prikazani su na tablicama 7, 8, 9 i 10. Iz tablice 7 može se vidjeti da je relativna masa tibije kod svih skupina pilića bila praktički jednaka. Slični rezultati dobiveni su i usporedbom dužine tibije (tablica 8) između restriktivno hranjene i nitrilne skupine pilića te kod analize pepela i minerala u kostima (tablica 9). Morfološke razlike između pokusne i kontrolnih skupina na kostima ekstremiteta utvrđene su jedino kod mjerenja širine epifiza, a posebno na distalnom dijelu tibiotarzalne i proksimalnom dijelu metatarzalne kosti (tablica 10). To se očito vidi iz relativnih brojeva koji su u svim razdobljima pokusa najveći u nitrilnoj skupini pilića. Slične promjene u širini epifize utvrđene su i na drugim dugim kostima ove skupine pilića.

Sa stereološkim mjerenjem linije rasta hrskavice na epifizama dugih kostiju nađena je statistički značajno uža zona proliferacije kod pokusne skupine pilića, a razlike između hipertrofičnih zona bile su manje.

Rezultati morfoloških mjerenja te patoanatomskih i histoloških promjena na kostima pokazuju da je na dugim kostima testnih pilića došlo do poremećaja endohondralne osifikacije s valgus deformacijom intertarzalnog zgloba, odnosno do vanjskog

otklona i rotacije distalnog dijela nogu. Ovakve deformacije kostiju kod mladih životinja Riddell, 1992., Thorp, 1992. svrstavaju na temelju patogeneze u skupinu razvojnih poremećaja rasta kosti zajedno s dishondroplazijom i spondilolistezom. U slučajevima najveće promjene nađene su na distalnom dijelu tibiotarzusa i proksimalnom dijelu metatarzusa. Osim lateralnog otklona utvrđena je i veća ili manja rotacija dugih kostiju.

Mehanizmi koji dovode do razvojnih poremećaja kostiju kod brojerskih pilića još nisu dovoljno poznati. Smatra se da imaju nasljednu osnovu a na njihovo pojavljivanje mogu utjecati i brojni tehnološki i hranidbeni faktori. Općenito je kod brzo rastućih linija brojerskih pilića utvrđena deblja i nepravilna epifizna hrskavica dugih kostiju ekstremiteta s predispozicijom za nastanak poremećaja kod formiranja kosti. Restriktivno hranjenje i kraći fotoperiod (Riddell, 1992.) umanjuju pojavljivanje bolesti, što je vjerojatno povezano s većom aktivnošću pilića i pravilnijom strukturom epifizne hrskavice dugih kostiju. Vjerojatno kod brzog rasta kostiju već mala oštećenja linije rasta dovode do deformacije kostiju (Thorp, 1992.). Do manjih poremećaja linije rasta može doći kod različitih deficita ili zbog nekih sastojaka u stočnoj hrani kao što su sirak (Armstrong i sur., 1973., Elkin i sur., 1978.), repičina sačma (Timms, 1983.) i mikotoksini (Sharby i sur., 1972., Walser i sur., 1982., Duff i sur., 1987.).

**Tablica 10. Širina (A) i relativna (R) širina distalne epifize tibiotarzusa (u mm)**  
**Table 10. Wide (A) and relative (R) distal epiphyseal width of tibiotharsus (in mm)**

Skupina Group	Starost žrtvovanih pilića (dani) - Age of chickens when sacrificed (days)							
	7		11		14		28	
	A	R*	A	R*	A	R*	A	R*
Restriktivna Restrictive	n=10 6.5 <sup>a</sup> ±0.50	75 <sup>a</sup> ±16	n=8 8.7 <sup>a</sup> ±0.76	54 <sup>b</sup> ±5	n=21 9.9 <sup>a</sup> ±0.53	41 <sup>ab</sup> ±4	n=10 14.2 <sup>a</sup> ±0.87	19 <sup>b</sup> ±2
Nitrilna Nitrile	n=10 6.6 <sup>a</sup> ±0.73	77 <sup>a</sup> ±22	n=8 8.7 <sup>a</sup> ±0.43	57 <sup>b</sup> ±9	n=22 9.8 <sup>a</sup> ±1.07	46 <sup>b</sup> ±12	n=10 15.3 <sup>ab</sup> ±1.16	24 <sup>c</sup> ±6
Ad libituma	n=12 8.0 <sup>b</sup> ±0.18	66 <sup>a</sup> ±4	n=6 9.6 <sup>b</sup> ±0.60	42 <sup>a</sup> ±5	n=17 10.2 <sup>a</sup> ±0.81	38 <sup>a</sup> ±7	n=10 16.0 <sup>b</sup> ±0.85	17 <sup>a</sup> ±2

Brojevi označeni različitim slovima među skupinama statistički se značajno razlikuju na stupnju (P<0.05)

Values with different superscripts between groups are significantly different (P<0.05)

\* Omjer između mase jetre i egzenterirane mase pilića x 1000

\* Liver weight to empty body weight ratio x 1000

Na temelju naših istraživanja može se zaključiti da prirodni nitril 1-ciano-2-hidroksi-3-buten, koji može nastati u sačmi uljane repice iz tireostatičnih glukozinolata, pokazuje jako antinutritivno djelovanje. Toksični učinci na jetra i štitnjaču slični su onima koji nastaju pod utjecajem standardnih razgradnih produkata tireostatičnih glukozinolata kao što su viniltiooksazolidon i izotiocianati. Osim toga, uzrokuju teška oštećenja bubrega te poremećaj u endohondralnoj osifikaciji dugih kostiju ekstremiteta. Promjene na kostima dovode u prvom redu do valgus deformacije distalnog dijela tibiotarzalne i proksimalnog dijela tarzometatarzalne kosti, dislokacije tetive muskulusa gastrocnemiusa na plantarnoj strani tibije i većih poteškoća u kretanju i uzimanju hrane i vode kod pilića. Deformacije kosti nogu i zaostatak u rastu značajan su razlog za izlučivanje pilića iz uzgoja i na liniji klanja.

#### LITERATURA:

1. Armstrong, W. D., W. R. Featherston, J. C. Rogler (1973): Influence of Methionine and Other Dietary Additions the Performance of Chick Fed Bird Resistant Sorghum Grain Diets. *Poultry Science* 52, 1592-1599.
2. Bell, J. M. (1984): Nutrients and toxicants in rapeseed meal. *J. Anim. Sci.* 58 (4), 996-1010.
3. Burdon, D., J. M. Perez, J. J. Baudet (1985): Nutritive value and utilization by the growing-finishing pigs on new types of rapeseed oil meals with low glucosinolate content. In: *Advances in the production and utilization of cruciferous crops*. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Dordrecht.
4. D'Mello, J. P. F., C. M. Duffs (1991). Toxic Factors in Crop Plants. *Proceedings of the Second Spring Conference*, Edinburgh.
5. Duff, S. R. I., R. B. Burns, P. Dwivedi (1987): Skeletal changes in broiler chicks and turkey poult fed diets containing ochratoxin A. *Res. vet. Sci.* 43, 301-307.
6. Elkin, R. G., W. R. Featherston, J. C. Rogler (1978): Investigations of Leg Abnormalities in Chickens Consuming High Tannin Sorghum Grain Diets. *Poultry Science* 57, 757-762.
7. Fenwick, G. R., R. F. Curtis (1980): Rapeseed meal and its use in poultry diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 5 (4), 225-298.
8. Fenwick, G. R., Ann E. Spinks, A. P. Wilkinson, R. K. Heaney, M. A. Legoy (1986): Effects of Processing on the Antinutrient Content of Rapeseed. *J. Sci. Food. Agric.* 37, 735-741.



9. Gould, D. H., M. J. Fettman, M. E. Daxenbichler, B. M. Bartuska (1985): Functional and structural alterations of the rat kidney induced by the naturally occurring organonitrile 2S-1-cyano-2-hydroxy-3,4-epithiobutane. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 78, 190-201.
10. Nishie, K., M. E. Daxenbachler (1980): Toxicology of glucosinolates, related compounds (nitriles, R-goitrin, isothiocyanates) and vitamin U found in cruciferae. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 18, 159-172.
11. Paik, I. K., A. R. Robblee, D. R. Clandinin (1980): Products of the hydrolysis of rapeseed glucosinolates. *Can. J. Anim. Sci.* 6, 481-493.
12. Puzstai, A. (1989): Antinutrients in rapeseeds. *Nutrition Abstracts and Reviews (Series B)* 59, 427-433.
13. Riddell, C. (1992): Non-infectious skeletal disorders of poultry: an overview. In *Bone Biology and Skeletal Disorders in Poultry*. Carfax Publishing Company, Abingdon.
14. Sharby, T. F., G. E. Templeton, J. N. Beasley, E. L. Stephenson (1972): Toxicity resulting from feeding experimentally moulded corn to broiler chicks. *Poultry Science* 52, 1007-1014.
15. Srivastava, V. K., D. J. Philbrick, D. C. Hill (1975): Response of rats and chicks to rapeseed meal subjected to different enzymatic treatments. *Can. J. Anim. Sci.* 55, 331-335.
16. Thorp, B. H. (1992): Abnormalities in the growth of leg bones. In *Bone Biology and Skeletal Disorders in Poultry*. Carfax Publishing Company, Abingdon.
17. Timms, L. M. (1983): Forms of leg abnormality observed in male broilers fed on a diet containing 12.5% rapeseed meal. *Research in Veterinary Science* 35, 182-189.
18. Vermorel, M., R. K. Heaney, G. R. Fenwick (1988): Antinutritional Effects of the Rapeseed Meals, Darmor and Jet Neuf, and Progoitrin Together with Myrosinase, in the Growing Rat. *J. Sci. Food Agric.* 44, 321-334.
19. Walser, M. M., N. K. Allen, C. J. Mirocha, G. F. Hanlon, J. A. Newman (1982): Fusarium-Induced Osteochondrosis (Tybial Dyschondroplasia) in Chicken. *Vet. Pathol.* 19, 544-550.
20. Wiesner, E. (1970): Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere. Gustav Fischer Verlag, Jena.
21. Wight, P. A. L., R. K. Scougall, D. W. F. Shannon, J. W. Wells (1987): Role of glucosinolates in the causation of liver haemorrhages in laying hens fed water-extracted or heat-treated rapeseed cakes. *Res. Vet. Sci.* 43, 313-319.
22. Yamashiro, S., T. Bast (1978): Ultrastructure of livers of broiler chickens fed diets containing rapeseed meal. *Res. Vet. Sci.* 25, 21-24.
23. Žust, J., P. Vospernik, A. Vengušt, U. Pestevšek, S. Bavdek, V. Cestnik (1993): Antinutritivne snovi v ogrščičnih tropinah. *Zb. Vet. Fak. Univ. Ljubljana* 30 (2), 143-151.

## SUMMARY

Antinutritive and pathological effects of nitrile compound 1-cyano-2-hydroxy-3-buten from rapeseed meal were studied in broiler chickens. Methylene chloride was used to extract nitrile from commercial rapeseed meal. The experiment was carried out on three groups of chickens receiving the same nutritionally balanced basic ration. To the diet of the test group 20 mmol/kg of nitriles was added. The first control group obtained the quantities of feed mixture equal to those consumed by chickens on the test ration and the second control group was fed ad libitum. The chickens were sacrificed on day 7, 11, 14 and 28 of the experiment.

The results showed that the weight gain of test chickens was about 30% lower than the weight gain of controls fed ad libitum. The difference was statistically significant ( $P < 0,05$ ). The comparison with restrictively fed controls also indicated that the feed conversion in the test group of chickens was 4 to 9% lower. Nitrile supplementation of diet resulted in statistically significant increase of liver weight and increased concentrations of aspartate aminotransferase (AST) and creatinin kinase (CT) in blood sera ( $P < 0,05$ ). Hystological examination of liver showed local parenchymatic

degeneration and increased division of hepatocyte. Statistically significant changes were also found in the weights of thyroid glands but tyreostatic effects of nitrile were smaller than the effects of common degrading products of glucosinolates. In the kidneys of chickens from the test group abundant degeneration and desquamation of tubular epithelia and interstitial bleedings were observed. Heavier clinical and pathomorphological changes of legs were found in 22 (42,3%) out of 52 chickens from test group, while the chickens from both control groups were healthy. The most intensive changes were found stated on distal parts of tibiotharsus and proximal parts of tarsometatarsus, where one-sided or both-sided valgus deformities with partial or total displacement of gastrocnemius tendon occurred, causing distinctive locomotor problems in birds.

It can be concluded that the unusual degrading product of tyreostatic glucosinolates 1-cyano-2-hydroxy-3-buten, originating from rapeseed meal, causes well known harmful effects such as lower palatability, liver damage, tyreostatic effects and organoleptic changes of food from animal origin as well as nephrotoxicity and disturbances in endochondral ossification of long bones.

**EKOLOŠKO ČIST UTOVAR  
KAMIONSKIH CISTERNI I  
OTVORENIH KAMIONA**

**MODUFLEX**

TELESKOPSKA CIJEV I FLEKSIBILNI UTOVARNI MIJEH  
REDUCIRAJU PRAŠINU, SMANJUJU RASIPANJE  
MATERIJALA I POBOLJŠAVAJU RADNU OKOLINU.

**MODULNA KONSTRUKCIJA I ŠIROK IZBOR  
RAZLIČITOG PRIBORA.**

*Javite nam se, da Vam pošaljemo prospektni materijal*

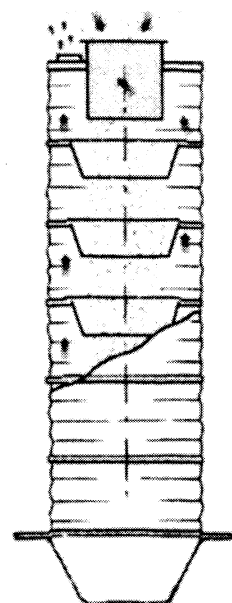
DENCO Engineering & Trade Co. Ltd.

P.O. box 185, Zihherlova 2

SLO-1001 Ljubljana

Tel.: +386 61 125 32 10

Fax.: +386 61 125 32 37



 <sup>®</sup>  
**MODUFLEX**