

Rezumat

Teza de abilitare intitulată *“Contribuții privind utilizarea diferiților aditivi pentru creșterea performanțelor animalelor și combaterea micotoxinelor”* prezintă într-un mod sintetic cele mai importante rezultate ale cercetărilor științifice în domeniul nutriției animale, fiind structurată în trei părți. În prima parte sunt descrise aspecte legate de activitatea educațională, de cercetare și instituțională. În capitolul al doilea sunt prezentate pe scurt direcțiile de cercetare precum și cele mai importante rezultate ale acesteia.

În primul capitol din partea a doua a lucrării, intitulat *“Impactul produsului inhibitor A asupra principalelor micotoxine din nutrețurile utilizate în hrana porcilor și păsărilor”* s-a urmărit acțiunea inhibitorului A al cărui efect am dorit să îl urmărim în toate sortimentele de nutrețuri pentru categoriile de porci din fermă. Cantitatea de inhibitor utilizată a fost de 1kg/t nutreț combinat. S-au apreciat din punct de vedere organoleptic probele recoltate și s-a determinat umiditatea și temperatura în spațiile de depozitare a nutrețurilor. Micotoxinele care au fost investigate în timpul acestui experiment au fost reprezentate de aflatoxina B₁, ochratoxina A, deoxinivalenolul, zearalenona și fumizina B1. Pentru a determina nivelul micotoxinelor menționate, s-a utilizat metoda ELISA Ridasceen. Am urmărit în paralel și acțiunea inhibitorului competitor B în toate sortimentele de nutreț din ferma de porci.

Am inițiat protocolul în același mod ca și la porci prin colectarea probelor din fabrica de nutrețuri combinate pentru fiecare categorie de rații utilizate în alimentația găinilor înainte și după adăugarea inhibitorului A. De asemenea am studiat și efectul unui inhibitor de micotoxine competitor, denumit inhibitor C, pe care l-am introdus în aceeași doză în toate sortimentele de nutrețuri în care am utilizat și inhibitorul A. Probele provenite de la nutrețurile combinate utilizate atât în ferma de porci cât și de păsări au fost investigate pentru conținutul de micotoxine înainte și după adăugarea inhibitorului de micotoxină A,B și C. În același timp, probele au fost păstrate în recipiente din sticlă

pentru fiecare categorie de nutreț combinat cu și fără adaos de inhibitori timp de cel puțin o lună, analizând toate cele 5 micotoxine în săptămânile 1,2 și 3. În această perioadă probele au fost analizate în fiecare săptămână pentru a observa scăderea nivelului de micotoxine la diferite intervale de timp.

S-a observat la final o rată bună de a inactivare a tuturor celor cinci micotoxine analizate, atât la nutrețurile destinate diferitelor categorii de porci cât și cele pentru găini, în ceea ce privește produsul inhibitor A, rezultatele demonstrând o constanță a gradului de inhibare la toate intervalele de timp analizate, de cele mai multe ori gradul de inactivare fiind foarte ridicat încă din momentul inițial. Nu aceleași lucru l-am putut constata în cazul produsului inhibitor competitor B, utilizat în hrana porcilor, la care un grad ridicat al inactivării a fost observat sporadic și doar după perioade de contact mai lungi ale inhibitorului cu nutrețul. Aceeași inconstanță s-a constatat și în cazul produsului inhibitor competitor C, introdus în hrana găinilor, acesta nereușind să inactiveze micotoxinele în unele intervale de timp, având o bună rată a inactivării doar spre sfârșitul perioadei de contact cu micotoxinele.

Capitolul al doilea din cea de-a doua parte, denumit "*Eficacitatea produselor lichide cu vitamine și uleiuri esențiale asupra performanțelor puilor broiler*" prezintă rezultatele acțiunii vitaminelor și a uleiurilor esențiale, utilizate ca aditivi în hrana puilor broiler, administrate atât singure cât și în amestec și comparate cu produse similare ale concurenței. Studiul a fost realizat pe un număr total de 1155 pui de carne, împărțiți în 7 loturi experimentale. S-a urmărit consumul de hrană al fiecărui lot de pui la care s-au administrat suplimentele comparativ cu lotul martor, înregistrat la 12,21,28 și respectiv 35 de zile, precum și greutatea individuală a puilor broiler la 35 de zile. De asemenea s-a determinat gradul de valorificare a hranei la puii broiler urmărindu-se consumul specific și s-a constatat că toate loturile au prezentat valori mai mici ale consumului specific în comparație cu lotul martor. Cele mai mari valori ale γ -globulinelor au fost înregistrate la loturile 3 (Vitamino+Essentielle) și 5 (uleiuri esențiale competitor), unde

a fost înregistrată aceeași valoare medie de 0,37 mg / dl, ceea ce înseamnă că loturile respective au avut un răspuns imunologic crescut.

În capitolul trei din cea de a doua parte, intitulat ”*Nivelul aflatoxinelor din nuci și semințe uscate ambalate în patru tipuri diferite de ambalaje din plastic de pe piața din România*” s-a studiat incidența aflatoxinelor totale și a aflatoxinei B₁ în nuci și fructe uscate. A fost investigat, de asemenea, efectul materialelor de ambalare din plastic asupra nivelului de aflatoxine totale și aflatoxină B₁. Matricile alimentare au fost reprezentate de un număr de 64 de probe de tipuri diferite de nuci și amestecuri, ambalate în PET (polietilen tereftalat), PP (polipropilenă), LDPE (polietilenă cu densitate redusă) și pungi din PE (polietilenă) provenite de pe piața din România. Atât probele netratate termic (nepărite) cât și prelucrate (prăjite, condimentate) au fost contaminate cu aflatoxine, sugerând că factorul termic nu a influențat decisiv scăderea conținutului de aflatoxină din probele analizate. Porumbul, fisticul, arahidele și fructele uscate au fost mai susceptibile la contaminare. Pe baza rezultatelor obținute, s-a constatat că probele ambalate în PET au prezentat, în mod semnificativ, cele mai mici concentrații de AFB₁, urmate de PE, PP și LDPE. La fel a fost și în cazul conținutului total de aflatoxine din toate probele analizate.

Capitolul patru din cea de-a doua parte, denumit ”*Aspecte clinice și mecanisme biochimice corelate cu consumul zearalenonei, micotoxină cu acțiune estrogenică*”, cuprinde trei subcapitole care prezintă rezultatele acțiunii estrogenice a micotoxinei la animalele de laborator, porci și bovine.

În subcapitolul 2.4.1. s-a evaluat efectul consumului de porumb infestat cu miceti din genul *Fusarium* asupra pool-ului folicular la scrofițe. Materialul biologic utilizat în acest studiu a fost reprezentat de 80 scrofițe în vârstă de 4 luni, care prezentau semne clinice de hiperestrogenism. Rezultatele examenului micologic al probelor de porumb luate în studiu au evidențiat o încărcătură micotică foarte crescută la probele analizate, deși porumbul nu prezenta modificări organoleptice decelabile macroscopic.

Examenul histologic al ovarelor a confirmat starea de hiperestrogenism sesizată la examenul clinic și paraclinic, foliculii intrând în ritm alert în procese de evoluție foliculară, dar nici unul nu ajunge să finalizeze prin ovulație. Starea de hiperestrogenism persistent a determinat reducerea drastică a rezervei foliculare într-un timp foarte scurt și compromiterea efectivului de scrofițe de reproducție.

În subcapitolul 2.4.2. sunt prezentate efectele zearalenonei asupra structurii tubilor seminiferi după introducerea micotoxinei în dieta șobolanilor. S-a observat că administrarea în rația zilnică a șobolanilor a 46,5 μg de zearalenonă pe o perioadă de 60 de zile a indus modificări de citoarhitectură, cum ar fi apariția structurilor papilare asemănătoare pliului și invaginări a tubilor seminiferi ce au afectat cea mai mare parte a liniei celulare seminale, inducând moderat apoptoza spermatogoniilor și spermatocitelor.

În subcapitolul 2.4.3. s-a evaluat impactul zearalenonei asupra aparatului reproducător al bovinelor dintr-o fermă din România . S-a constatat că un număr mare de probe de porumb (50%) care au intrat în hrana vacilor au avut un nivel al umidității mai mare decât cel normal, ceea ce relevă o problemă cu producerea, depozitarea și manipularea porumbului. Principalii miceti identificați au aparținut genurilor *Penicillium* și *Fusarium*. Zearalenona a fost detectată în toate probele analizate, cu valori cuprinse între 20 și 2150 μg / kg, conținutul mediu fiind de 1085 μg / kg.. La examenul clinic al bovinelor incluse în studiu, s-au observat avorturi ce au avut loc în intervalul dintre ziua 40 și 6 luni, chisturi, hemoragii estrale și postestrare, retenții placentare urmate de puerperiu patologic. Toate tulburările de reproducție au fost legate direct de conținutul ridicat de zearalenonă din probele analizate.

În cea de-a treia parte a tezei sunt prezentate planurile de dezvoltare atât științifică cât și profesională și academică. Planul de dezvoltare a carierei științifice vizează creșterea calității științifice, a numărului de publicații în reviste de prestigiu, a recunoașterii și vizibilității naționale și internaționale. Activitatea de cercetare din următorii ani se va axa pe evaluarea nivelului micotoxinelor atât în produsele alimentare

cât și în nutrețurile destinate hrănirii animalelor, acțiunea diferiților inhibitori prin captarea și transformarea micotoxinelor, prin experimente atât *in vitro* cât și *in vivo* la monogastrice și la poligastrice, unde capacitatea de deepoxidare a micotoxinelor este mai ridicată, datorită prezenței micoorganismelor ruminale. Doresc să dezvolt continuu metodele de cercetare aplicabile în acest domeniu prin colaborări interdisciplinare și inter-universitare, în vederea atragerii de fonduri pentru dezvoltarea laboratorului și pentru a contribui la realizarea Institutului de Nutriție și Patologie Animală ce se va constitui în viitorul apropiat.

Summary

The habilitation thesis entitled "*Contributions regarding the utilization of different additives to increase animal performances and mycotoxins control*" summarizes the most important results of scientific research in the field of animal nutrition, being structured in three parts. The first part describes aspects related to educational, research and institutional activity. In the second chapter are briefly presented the research directions and its most important results.

The first chapter of the second part of the paper, entitled "*Impact of inhibitor A on the main mycotoxins in fodders used in swine and poultry feed*" focused on the action of inhibitor A whose effect we wanted to assess in all assortments of feed for different pig categories from the farm. The amount of inhibitor used was 1kg / t combined fodder. The collected samples were assessed from an organoleptic point of view and the humidity and temperature in the forage storage areas were also determined. The investigated mycotoxins during this experiment were aflatoxin B1, ochratoxin A, deoxynivalenol, zearalenone and fumonizine B1. To determine the level of mentioned mycotoxins, the Ridasceen ELISA method was used. We also evaluated the action of the competitor inhibitor B in all fodder assortments from the pig farm.

We initiated the protocol in the same way as in pigs by collecting samples from the combined feed factory for each category of rations used in feeding of laying hens before and after the addition of inhibitor A. We also studied the effect of a competing mycotoxin inhibitor, called inhibitor C, which we introduced in the same dose in all the assortments of feeds in which we used inhibitor A. Samples from combined fodders used on both pig and poultry farms were investigated for mycotoxin content before and after the addition of mycotoxin inhibitors A, B and C. At the same time, the samples were kept in glass containers for each category of combined fodder with and without the addition of inhibitors for at least one month, analyzing all 5 mycotoxins at weeks 1,2

and 3. During this period the samples were analyzed every week to observe the decrease of mycotoxins level at different intervals of time.

In the end, a good inactivation rate was observed for all five mycotoxins analyzed both for fodder for different categories of pigs and for laying hens, in terms of inhibitor product A, the results showing a constant degree of inhibition at all analyzed time intervals, most often the degree of inactivation being very high from the initial moment. We could not see the same in the case of the competing inhibitor product B, used in swine feed, in which a high degree of inactivation was observed sporadically and only after longer periods of contact of the inhibitor with the feed. The same inconsistency was found in the case of the competing inhibitory product C, introduced in the laying hens feed, which failed to inactivate mycotoxins in some time intervals, having a good inactivation rate only towards the end of the mycotoxin contact period.

The second chapter of the second part, entitled "*The effectiveness of liquid products with vitamins and essential oils on the performance of broiler chickens*" presents the results of the action of vitamins and essential oils, used as additives in broiler chicken feed, administered alone and in mixture and compared to similar products of the competition. The study was conducted on a total of 1155 broilers, divided into 7 experimental groups. We investigated the feed consumption of each group of chickens in which the supplements were administered compared to the control group, recorded at 12, 21, 28 and 35 days, respectively, as well as the individual weight of broilers at 35 days. It was also determined the FCR (feed conversion ratio) and it was found that all groups had lower values of FCR compared to the control group. The highest values of γ -globulins were recorded in groups 3 (Vitamino + Essentielle) and 5 (competitor essential oils), where the same average value of 0.37 mg / dl was recorded, which means that both groups had an increased immune response.

Chapter three of the second part, entitled "*The level of aflatoxins in nuts and dried seeds packaged in four different types of plastic packaging on the Romanian market*" presented the incidence of total aflatoxins and aflatoxin B₁ in nuts and dried

fruits. The effect of plastic packaging materials on the level of total aflatoxins and aflatoxin B₁ was also investigated. The food matrices were represented by a number of 64 samples of different types of nuts and mixtures, packed in PET (polyethylene terephthalate), PP (polypropylene), LDPE (low density polyethylene) and PE (polyethylene) bags from the Romanian market. Both non-heat-treated (unroasted) and processed (roasted, seasoned) samples were contaminated with aflatoxins, suggesting that the thermal factor did not decisively influence the decrease of aflatoxin content in the analyzed samples. Corn, pistachios, peanuts and dried fruits were more susceptible to contamination. Based on the results obtained, it was found that the samples packaged in PET showed significantly the lowest concentrations of AFB₁, followed by PE, PP and LDPE. The same thing was observed for the total aflatoxin content of all analyzed samples.

Chapter four of the second part, entitled “*Clinical aspects and biochemical mechanisms related to the consumption of zearalenone, mycotoxin with estrogenic action*”, includes three subchapters that present the results of the estrogenic action of mycotoxin in laboratory animals, pigs and bovine.

In subchapter 4.1. the effect of consuming *Fusarium*-infested corn on the follicular pool in sows was evaluated. The biological material used in this study was 80 gilts 4-month-old, which showed clinical signs of hyperestrogenism. The results of the mycological examination of the investigated maize samples showed a very high mycotic load in the analyzed samples, although the maize did not show macroscopically detectable organoleptic changes.

Histological examination of the ovaries confirmed the state of hyperestrogenism noticed at the clinical and paraclinical examination, the follicles entering rapidly in processes of follicular evolution, but none of them ends up through ovulation. The state of persistent hyperestrogenism determined the drastic reduction of the follicular reserve in a very short time and compromised the breeding gilts group.

In subchapter 4.2. are presented the effects of zearalenone on the structure of seminiferous tubules after the introduction of mycotoxin into the diet of rats. It was observed that the daily ration of 46.5 µg of zearalenone in rats over a 60-day period induced changes in cytoarchitecture, such as the appearance of fold-like papillary structures and invaginations of the seminiferous tubules that affected most of the seminal cell line, moderately inducing apoptosis of spermatogonia and spermatocytes.

In subchapter 4.3. the impact of zearalenone on the reproductive system of cattle on a farm in Romania was assessed. It was found that a large number of corn samples (50%) that entered the cows' feed had a higher than normal moisture level, which reveals a problem with the production, storage and handling of corn. The main fungi identified belonged to the *Penicillium* and *Fusarium* genera. Zearalenone was detected in all samples analyzed, with values between 20 and 2150 µg / kg, the average content being 1085 µg / kg. At the clinical examination of the cattle included in the study, abortions were observed, that occurred between day 40 and 6 months, cysts, estrous and postestral hemorrhages, placental retention followed by pathological puerperium. All reproductive disorders were directly related to the high zearalenone content of the samples analyzed.

In the third part of the thesis are presented the plans for scientific, professional and academic development. The scientific career development plan aims to increase the scientific quality, the number of publications in prestigious journals, national and international recognition and visibility. Research activity in the coming years will focus on assessing the level of mycotoxins in both food and feed, the action of various inhibitors by capturing and transforming mycotoxins, through both *in vitro* and *in vivo* experiments in monogastric and polygastric, where the deepoxidation capacity of mycotoxins is higher, due to the presence of ruminal microorganisms. I would like to continuously develop the research methods applicable in this field through interdisciplinary and inter-university collaborations, in order to attract funds for the development of the laboratory and to contribute to the realization of the Institute of Nutrition and Animal Pathology that will be established in the near future.