

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**  
**Budapest**

**A FULVOSAV ÉS A HUMINSAV BIOLÓGIAI  
HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA PATKÁNYOKON**

**PhD értekezés tézisei**

**Dr. Vucskits András Valentin**

**2014**

Szent István Egyetem

Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Budapest

Témavezetők és témabizottsági tagok:

*Dr. Szabó József, MTA doktora*

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Intézet

témavezető

*Dr. Hullár István, mg. tud. kandidátusa*

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Intézet

társ-témavezető

*Dr. Szigeti Gábor, mg. tud. kandidátusa*

témabizottsági tag

*Dr. Veresegyházi Tamás, áo.-tud kandidátusa*

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Élettani és Biokémiai Tanszék

témabizottsági tag

## Tartalomjegyzék

1. Bevezetés .....	4
2. Célkitűzések .....	5
3. Anyag és Módszer .....	6
3.1. Első kísérlet .....	6
3.2. Második kísérlet .....	8
4. Eredmények .....	9
4.1. A fulvosav és a huminsav hatása az immunizált állatok súlygyarapodására, takarmányfogyasztására és fajlagos takarmány-felhasználására .....	9
4.2. A fulvosav és a huminsav hatása a patkányok immunválasz-készségére .....	10
4.3. A fulvosav és a huminsav hatása a bélflórára és egyes alkotóira ( <i>in vivo</i> és <i>in vitro</i> ) .....	10
4.4. A fulvosav és a huminsav hatása a vérplazma vasredukációs képességére (FRAP) és az AST aktivitására .....	10
4.5. A fulvosav és a huminsav hatása a pajzsmirigy működésére .....	11
4.6. A fulvosav és a huminsav hatása a vastagbéltartalom, valamint egyes szervek (máj, vese, csont, szőr) Fe-, Cu-, Zn- és Mn-koncentrációjára .....	11
5. Következtetések .....	12
6. Új tudományos eredmények .....	14
7. A doktori kutatás eredményeinek közlése .....	15
8. Köszönetnyilvánítás .....	17

## 1. Bevezetés

Az iparszerű takarmányozásban a hozamfokozó antibiotikumok betiltása (2006) miatt új, környezetbarát, természetes hozamnövelőkre van szükség. Ilyen célból számos anyaggal kísérleteznek a kutatók (pl.: probiotikumok, prebiotikumok, növényi alapú immunstimuláns hozamfokozók stb.). Ezen anyagok hatékonysága azonban nem közelíti meg az antibiotikumokét. Ebből következően, jelenleg nincs olyan készítmény, amivel teljes mértékben helyettesíteni lehetne a hozamfokozó antibiotikumok komplex hatását.

A probléma megoldása szempontjából új megközelítést jelenthetnek a humuszanyagok és azok sói a humátok, melyek mindenütt előfordulnak a természetben, nagy biológiai aktivitással rendelkeznek, és már az ókor óta használatosak a humán gyógyászatban.

A humuszanyagoknak az állatok egészsége és a hozamnövelés szempontjából előnyösnek tartott tulajdonságait a következőkben foglalhatjuk össze: baktericidek, viricidek, gyulladáscsökkentők, toxinkötők, adszorptívok, antioxidánsok, immunstimulánsok, javítják a mikroelemek felszívódását, továbbá csökkentik a nehézfémek toxicitását.

A felsoroltak bizonyítására vonatkozóan azonban csak kevés objektív vizsgálat áll rendelkezésre. A humuszanyagok nem csak pozitív módon befolyásolják a szervezet működését. Ismertek olyan élettani folyamatok melyekre negatív hatással vannak, mint például a pajzsmirigyműködés.

Vannak olyan biológiai paraméterek (pl. a gazdasági mutatók) melyekkel kapcsolatban ellentmondásos eredmények találhatók a szakirodalomban. Ezek egyik oka az lehet, hogy a különböző eredetű humuszanyagok eltérő koncentrációban tartalmaznak fulvosavat (FA) és huminsavat (HA), valamint fémtartalmuk is más. Rendelkezésre állnak azonban olyan kémiai módszerek, amelyekkel a humuszanyagokból jól meghatározható „sztenderd” FA-, illetve HA-frakció különíthető el a kiindulási anyagból. Ilyen alapanyag a – hazánkban, Dudar község mellett bányászott – leonarditból előállított termék, a Dudarit.

Az előzőekben leírtak alapján egy olyan vizsgálat sorozat elvégzését tartottam indokoltnak, amelyben pontos kísérleti adatokat kaphatunk arról, hogy a humuszanyagok melyik fő alkotórészéhez (a Dudaritból kivont fulvosavhoz FA<sub>D</sub>, vagy huminsavhoz HA<sub>D</sub>) és milyen mértékben köthető – az irodalomban említett – hozamfokozó hatás. Fontosnak tartottam annak megállapítását is, hogy magyarázható-e a hozamfokozó hatás a szakirodalom alapján jelentősnek ítélt biológiai hatásokkal, illetve számolnunk kell-e az FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> hozamfokozóként történő felhasználásakor állategészségügyi szempontból negatív hatással. Mindezek szem előtt tartásával terveztem meg vizsgálataimat.

## 2. Célkitűzések

A PhD munka keretében két kísérletet végeztem.

Az első kísérlet célja az volt, hogy választ kapjak az alább felsorolt kérdésekre.

- Befolyásolja-e az FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> az ovalbuminnal immunizált patkányok takarmányfelvételét, testsúlyát, súlygyarapodását és fajlagos takarmány-felhasználását?
- Azonos vagy eltérő az FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> hatása a gazdasági paraméterekre, és oka lehet-e az esetleges eltérő hatás a szakirodalomban található ellentmondásoknak?
- Melyik humuszanyag-frakcióhoz (FA<sub>D</sub> és/vagy HA<sub>D</sub>) köthető és milyen mértékben az irodalomban közölt immunstimuláns hatás?
- Mi az optimális dózisa az aktív anyagnak (FA<sub>D</sub> és/vagy HA<sub>D</sub>)?
- Befolyásolja-e a takarmány FA<sub>D</sub>- és HA<sub>D</sub>-kiegészítése az egyes – a fő, kísérő- és maradványflórához tartozó – baktériumcsoportok (tejsavtermelők, coliformok és szulfitredukáló anaerob rothasztók) számát a kísérleti patkányok vastagbél-tartalmában?
- Módosítják-e a tesztanyagok a bélflóra egyensúlyi állapotát?
- Hat-e az FA<sub>D</sub> illetve a HA<sub>D</sub> a vérplazma vasredukációs kapacitására?
- Van-e májkárosító hatásuk (AST-aktivitás vizsgálata, szövettan)?
- Hat-e az FA<sub>D</sub>, illetve a HA<sub>D</sub> a vérplazma TSH, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> koncentrációjára és a T<sub>4</sub>/T<sub>3</sub>-hányadosra?
- Melyik humuszanyag frakcióhoz köthető az esetleges hatás?
- Befolyásolja-e az immunstimuláció céljából adott FA<sub>D</sub> és HA<sub>D</sub> a Fe, Cu, Zn és Mn koncentrációját a vastagbél-tartalomban és a vizsgált szervekben (máj, vese, combcsont, szőr)?
- Amennyiben igen, azonos vagy eltérő hatású-e a két vizsgálati anyag?
- Dózisfüggő-e az FA<sub>D</sub>, illetve a HA<sub>D</sub> hatása bármelyik vizsgált parameter esetében?

A második kísérlet célkitűzései az alábbiak voltak.

- Az immunológiai eredményeinek ellenőrzése az első kísérletben megállapított optimális dózissal.
- Annak megállapítása, hogy növeli-e – a humorális mellet – a celluláris immunválasz intenzitását is az FA<sub>D</sub> illetve a HA<sub>D</sub> és hatnak-e az immunválasz időbeli lefolyására.

## 3. Anyag és Módszer

### 3.1. Első kísérlet

A kísérletet CRL:(WI) BR törzsből származó, SPF, hím, választott patkánnyal végeztem. A 8 kísérleti csoportban a kontrolltápot az alábbiak szerint egészítettem ki a tesztanyagokkal:

- kontroll,
- kontroll + 0,1% FA<sub>D</sub>,
- kontroll + 0,2% FA<sub>D</sub>,
- kontroll + 0,4% FA<sub>D</sub>,
- kontroll + 0,8% FA<sub>D</sub>,
- kontroll + 0,1% HA<sub>D</sub>,
- kontroll + 0,2% HA<sub>D</sub>,
- kontroll + 0,4% HA<sub>D</sub>,
- kontroll + 0,8% HA<sub>D</sub>.

A kísérlet 2. napján 200 µg ovalbumint, 400 µl komplett Freund adjuvánst és 400 µl foszfátpuffer-oldatot tartalmazó szuszpenzióval, intraperitoneálisan immunizáltam a patkányokat. Az állatok testsúlyát és takarmányfogyasztását hetente háromszor mértem.

A tesztanyagok előállítása során a Bakony-hegységben lévő Dudar község közelében bányászott, 10% Dudarittartalmú port az IHSS (International Humic Substance Society) által elfogadott standard módszerrel választják szét FA<sub>D</sub>-ra és HA<sub>D</sub>-ra, amivel kémiaiilag tiszta FA<sub>D</sub> és HA<sub>D</sub> állítható elő.

A kísérleti állatok tartási körülményei és kezeléseinek lebonyolítása megfeleltek az EGK 86/609 irányelvében foglaltaknak. A kísérletet a hatályos magyar állatvédelmi törvényben (XXVIII/1998-FVM) foglaltak szerint végeztük.

A vizsgálatok elvégzését a 49116 sz. OTKA- és a 15939 sz. NKB-pályázatok tették lehetővé.

#### **Az ellenanyag-titer meghatározása**

A vizsgálatot az MGSZH Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságának Virologiai osztályán végeztem ELISA-módszerrel. A lemezeket Multiskan MS Primary EIA V. 1.8-0 berendezéssel és szoftverrel 450 nm-en értékeltem ki.

## **A vastagbél-tartalom-minták feldolgozásának elve**

A mintákat aseptikus körülmények között, üvegbottal homogenizáltam, majd azokból csoportonként 10-10 g-ot mértem ki, amelyeket 90 ml steril hígító folyadékban egyenletesen szuszpendáltam. Így 1:10 arányú alaphígítású vizsgálati anyaghoz jutottam.

Az alaphígítású mintából kiindulva decimális hígítási sort készítettem. Célszerűen úgy jártam el, hogy 2 ml 1:10-es hígítású szuszpenziót 18 ml steril hígító folyadékkal homogenizáltam (1:100-as hígítás). A további hígítások (1:1000-es, 1:10000-es, stb.) úgy készültek, hogy az előző hígítás egy térfogategységét kilencszeres mennyiségű hígító folyadékkal homogenizáltam az ISO 6887-1:1999. szabványban rögzítettek szerint.

A decimális hígítási sorokká alakított vastagbél-tartalom-suszpenziókból a tejsavtermelő mikrobák, a szulfitredukáló anaerobok (clostridiumok) és a coliform baktériumok grammonkénti telepképző számát (colony forming unit, CFU) határoztam meg.

## **FRAP**

A vérplazma antioxidáns-kapacitását a plazma vasredukáló képességének spektrofotometriás mérésével (FRAP-módszer) határoztam meg.

## **AST**

A minták AST-aktivitását a Diagnoszticum Rt. (Magyarország) reagenskészlete segítségével határoztam meg.

## **A T<sub>3</sub> és T<sub>4</sub> meghatározása**

A plazma T<sub>3</sub>- és T<sub>4</sub>-szintjének meghatározása a Magyar Izotóp Intézet által kifejlesztett <sup>125</sup>I-3 coated-spec, -RIA kitékkel történt.

## **A TSH meghatározása**

A vérplazma rTSH-szintjének meghatározását a Magyar Izotóp Intézet végezte RIA-módszerrel.

## **A minták mikroelem-tartalmának meghatározása**

A minták vas-, cink-, réz- és mangán-koncentrációjának vizsgálatát Carl Zeiss Jena AAS3 típusú atomabszorpciós spektrométerrel végeztük.

## **Statisztikai analízis**

Az adatok elemzésére egytényezős varianciaanalízist (ANOVA), LSD-tesztet és Dixon-féle próbát végeztünk STATISTICA 6 (Statsoft, Inc. 2003) szoftvercsomaggal.

### **3.2. Második kísérlet**

A kísérletben az első vizsgálat alapján az immunizálás szempontjából optimálisnak (0,4%) bizonyult FA<sub>D</sub>- illetve HA<sub>D</sub>-koncentrációval dolgoztam az alábbi elrendezés szerint:

- Kontroll,
- 0,4% FA<sub>D</sub>,
- 0,4% HA<sub>D</sub>.

A kísérlet második napján immunizáltam az állatokat (150 µg ovalbumin 150 µl inkomplett Freund adjuváns és 150 µl foszfátpufferoldat szuszpenziójával sc.).

### **Ellenanyagtiter-vizsgálat**

A vizsgálatot a Szent István Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai tanszékén ELISA-módszerrel végeztem. A lemezek kiértékelése Multiskan MS Primary EIA V. 1.8-0 berendezéssel és szoftverrel 450 nm-en történt.

### **Limfocitastimulációs vizsgálat**

A celluláris immunválaszt *in vitro* limfocitastimulációs teszttel (LST) végeztem.

### **Szövetteni vizsgálat**

Az Országos Állat-egészségügyi Intézetben hisztometriai analízist végeztek az állatok különböző vékonybélszakaszaiból eltávolított mintákon, valamint a lép limfoidsejtes zónáin.



## 4. Eredmények

### 4.1. A fulvosav és a huminsav hatása az immunizált állatok súlygyarapodására, takarmányfogyasztására és fajlagos takarmány-felhasználására

#### Takarmányfelvétel

Nem volt szignifikáns különbség abban az esetben, amikor a kontrollt az egyes kísérleti csoportokhoz hasonlítottam, sem a kísérleti csoportok egymással történő összevetésekor.

Az alkalmazott dózisokat összevonva, egy-egy csoportként elemezve az FA<sub>D</sub>- illetve a HA<sub>D</sub>-kiegészítés hatását, azt tapasztaltuk, hogy az FA<sub>D</sub>-nak és a HA<sub>D</sub>-nak a takarmányfelvételre kifejtett hatása a 15. és 21. nap közötti időszakban és a kísérlet teljes időtartamára nézve szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) eltért egymástól. Az FA<sub>D</sub>-csoportban, mindkét időintervallumban szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) kisebb volt a takarmányfelvétel a HA<sub>D</sub>-csoportéhoz képest. A kontrollhoz viszonyítva viszont egyik esetben sem volt szignifikáns eltérés.

#### Testsúly és súlygyarapodás

Nem volt szignifikáns különbség abban az esetben, amikor a kontrollt az egyes kísérleti csoportokhoz hasonlítottam, sem a kísérleti csoportok egymással történő összevetésekor.

Az alkalmazott dózisokat összevonva, egy-egy csoportként elemezve az FA<sub>D</sub>- illetve a HA<sub>D</sub>-kiegészítés hatását, azt tapasztaltuk, hogy a 15-21. nap között az FA<sub>D</sub>-s kiegészítést fogyasztó egyedek súlygyarapodása szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) kevesebb volt mind a kontrollnál, mind a HA<sub>D</sub>-s csoportnál.

#### Fajlagos takarmány-felhasználás

Nem volt szignifikáns különbség abban az esetben, amikor a kontrollt az egyes kísérleti csoportokhoz hasonlítottam, sem a kísérleti csoportok egymással történő összevetésekor.

Az alkalmazott dózisokat összevonva, egy-egy csoportként elemezve az FA<sub>D</sub>- illetve a HA<sub>D</sub>-kiegészítés hatását, azt tapasztaltuk, hogy csak a 8-14. nap között volt eltérés az egyes csoportok között, amely időszakban az FA<sub>D</sub>-s csoport fajlagos takarmány-felhasználása szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) jobb volt a kontroll- és a HA<sub>D</sub>-kiegészítésű takarmányt fogyasztó csoporténál. A kísérlet teljes időtartamára vonatkoztatva viszont az FA<sub>D</sub> már szignifikáns ( $p < 0,05$ ) mértékben rontotta a fajlagos takarmány-felhasználást a kontrollhoz képest.

## **4.2. A fulvosav és a huminsav hatása a patkányok immunválasz-készségére**

### **Első kísérlet**

A 0,4%-ban alkalmazott FA<sub>D</sub> és HA<sub>D</sub> egyaránt szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) növelte a patkányok szérummintáiban az ovalbumin ellen termelődött ellenanyagszintet.

### **Második kísérlet**

A 0,4% FA<sub>D</sub> és HA<sub>D</sub> kiegészítés a kísérlet 14. napjára több, mint 50%-al növelte a szérumban mérhető ellenanyag-koncentrációt. A kísérlet végére (26. nap) a 0,4%-ban alkalmazott FA<sub>D</sub> több, mint 2,5-szörösére, a HA<sub>D</sub> pedig majdnem 2-szeresére növelte a szérumban mérhető ellenanyag-koncentrációt a kontroll csoporthoz képest.

Sem az FA<sub>D</sub> sem a HA<sub>D</sub> nem befolyásolta a vizsgálat időpontjában az ovalbumin elleni celluláris immunválasz intenzitását.

Nem volt eltérés a bélnyálkahártyát borító hámsejtek, a kehelysejtek vagy a kötőszöveti rétegek (stratum villosum, propria, submucosa) szöveti képében. Az ileumban, a metszési sík függvényében is fellelhető limfoid folliculusok hiperpláziáját (a limfoblasztsejtekből felépülő centrum germinatívumok átlagos átmérője) lehetett látni. A FA<sub>D</sub>-val vagy HA<sub>D</sub>-val kezelt állatok esetében a limfoid képletek mérete lényegesen meghaladta (800-900  $\mu\text{m}$ ) a kontrollnál mért értéket (300-400  $\mu\text{m}$ ).

az FA<sub>D</sub>-val és HA<sub>D</sub>-val kezelt patkányok lépében a marginális („B”-dependens) limfoblastokból felépülő limfoid sejtzóna átlagos vastagsága 150-200  $\mu\text{m}$ -re növekedett a kontroll (100-120  $\mu\text{m}$ ) méreteihez képest. A kísérleti csoportokban – a kontrollhoz képest – lényegesen nagyobb átmérőjű centrum germinatívumokat lehetett felismerni. A periarteriolaris („T”-dependens), kis limfocitákból felépülő zónaméretében nem tapasztaltunk eltérést a kontrollhoz képest.

## **4.3. A fulvosav és a huminsav hatása a bélflórára és egyes alkotóira (*in vivo* és *in vitro*)**

Mindkét humuszanyag-kiegészítésű rendszerben a kimutatási határ ( $10^2$  CFU/g) alá csökkent a szulfitredukáló anaerob csírák száma, amely a kontrollhoz képest több mint 2 nagyságrendű bélflóra-eltolódást jelent.

## **4.4. A fulvosav és a huminsav hatása a vérplazma vasredukációs képességére (FRAP) és az AST aktivitására**

Az FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> nem befolyásolta szignifikáns mértékben a patkányok vérében mérhető vasredukációs képességet és AST-aktivitást.

A kezelt és a kontrollpatkányok májának szöveti képében nem volt eltérés.

#### **4.5. A fulvosav és a huminsav hatása a pajzsmirigy működésére**

Vizsgálataink azt mutatták, hogy sem az FA<sub>D</sub>, sem a HA<sub>D</sub> nem befolyásolta szignifikáns mértékben a vérplazma TSH-, T3- és T4-koncentrációját, valamint a T4/T3-hányadost, bár az FA<sub>D</sub> esetében a TSH-koncentráció a dózissal szignifikáns korrelációban növekedett, a T4/T3-hányados pedig csökkent.

#### **4.6. A fulvosav és a huminsav hatása a vastagbél tartalom, valamint egyes szervek (máj, vese, csont, szőr) Fe-, Cu-, Zn- és Mn-koncentrációjára**

Az FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> – nagy vastartalmuk miatt – dózistól függően emelték az alkalmazott tápok vaskoncentrációját. Az FA<sub>D</sub> 0,2; 0,4 és 0,8%-os dózisa szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) növelte a vastagbél tartalom vastartalmát. A HA<sub>D</sub> 0,2; 0,4 és 0,8%-ban adagolva – a kontrollhoz képest – szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) csökkentette máj vastartalmát. Az FA<sub>D</sub> nem befolyásolta ezt a paramétert. Az FA<sub>D</sub>-kiegészítés minden dózisa szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) növelte a vese vaskoncentrációját. Ezzel szemben a HA<sub>D</sub> 0,2%-ban, és a feletti koncentrációban csökkentette a vese vastartalmát. A csökkenés a 0,8%-os kiegészítés esetén szignifikáns ( $p < 0,05$ ) volt.

Az FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> mindegyik dózisa szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) csökkentette a vastagbél tartalom rézkoncentrációját a kontrollhoz képest. A máj réztartalmát – a kontrollhoz képest – szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) növelte a táp FA<sub>D</sub>-val való 0,2 és 0,8%-os kiegészítése. A HA<sub>D</sub>-t tartalmazó tápot fogyasztó csoportok esetében – a kontrollhoz képest – a 0,1%-os kiegészítés szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) növelte, a 0,2%-os kiegészítés viszont szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) csökkentette a máj réztartalmát. A nagyobb (0,4 és 0,8%) HA<sub>D</sub>-kiegészítésű tápok nem befolyásolták ezt a paramétert.

A HA<sub>D</sub> mindegyik koncentrációban szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) csökkentette a vastagbél tartalom cinktartalmát. Az FA<sub>D</sub> 0,1; 0,4 és 0,8%-os koncentrációban szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) csökkentette a vese cinkkoncentrációját. Az FA<sub>D</sub> 0,8%-os, a HA<sub>D</sub> 0,1 és 0,4%-os adagja szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) csökkentette a combcsont cinktartalmát.

Az FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> egyik dózisa sem befolyásolta szignifikánsan a táp, a vastagbél tartalom, a máj, a vese, a combcsont és a szőr mangántartalmát.

## 5. Következtetések

### **A fulvosav és a huminsav gazdasági paraméterekre kifejtett hatásából levonható megállapítások összefoglalása**

Az intézeti körülmények között tartott és ovalbuminnal immunizált SPF patkányokban – a kontrollhoz viszonyítva – sem a FA<sub>D</sub> sem a HA<sub>D</sub> nem befolyásolta szignifikáns mértékben a takarmányfelvételt, a súlygyarapodást, ellenben a FA<sub>D</sub> szignifikáns mértékben rontotta a fajlagos takarmány-felhasználást.

A HA<sub>D</sub> hatása egyik vizsgált paraméterre vonatkozóan sem volt dóziszfüggő.

A kísérlet 7-14. napja között igen erős ( $R=-0,996$ ) polinomiális összefüggés volt a FA<sub>D</sub> dózisa és a fajlagos takarmány-felhasználás között, mely szerint a 0,4%-os bekeverési szint mutatkozott a legjobbnak.

A FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> takarmányfelvételre és testsúlyra kifejtett hatása szignifikánsan eltérő, ugyanis a HA<sub>D</sub>-kiegészítésben részesült állatok takarmányfelvétele és testsúlya szignifikánsan nagyobb volt, mint a FA<sub>D</sub> csoportoké, ami alapján valószínűsíthető, hogy a FA<sub>D</sub> étvágycsökkentő és/vagy ízrontó.

A kísérlet adatai arra utalnak, hogy a szakirodalomban található, humuszanyagokkal kapcsolatos számos ellentmondás egyik fő oka a vizsgált anyagok eltérő FA:HA-arányában keresendő. Mindezek mellett az alábbi okok játszhatnak még fontos szerepet:

- a kísérletekben használt humuszanyagok különböző dózisai,
- a vizsgálati anyagok adagolásának időtartama,
- a kísérletekben használt állatfaj,
- az eltérő környezeti terhelés (főleg intézeti és nagyüzemi vizsgálatok között),
- az etetés időtartama alatt az immunizálás megléte vagy annak hiánya.

### **A fulvosav és a huminsav immunválaszra kifejtett hatásából levonható megállapítások összefoglalása**

Mind az FA<sub>D</sub> mind a HA<sub>D</sub> kifejezett immunstimuláns hatást mutatott.

Az FA<sub>D</sub>- és a HA<sub>D</sub> egyaránt a humorális immunválaszt fokozta. Az ovalbumin ellen adott humorális immunválasz szempontjából a 0,4%-os FA<sub>D</sub>- és HA<sub>D</sub>-kiegészítés bizonyult az optimális koncentrációnak.

A FA<sub>D</sub>- és a HA<sub>D</sub> immunstimuláns hatása a gyakorlati takarmányozás számára igen nagy jelentőséggel bírhat, hiszen patogénterhelésnek kitett állományokban a humuszanyagok erős humorális immunstimuláns hatása hozamnövekedést is eredményezhet. Feltehetően erre vezethető vissza a humuszanyagok szakirodalomban közölt nagyüzemi kísérletekben mért hozamfokozó hatása.

## **A fulvosav és a huminsav bélfőrára kifejtett hatásából levonható megállapítások összefoglalása**

Mind a FA<sub>D</sub>, mind a HA<sub>D</sub> kedvezően befolyásolta a vastagbélfőra egyensúlyát, mivel két kitevővel csökkentette a maradványfőrához tartozó szulfitredukáló anaerob csírák számát a kontrollhoz képest.

A HA<sub>D</sub>-tartalmú táp kedvezően módosította a bélfőra egyensúlyi állapotát azáltal, hogy növelte a tejsavtermelő/coliform arányt.

A HA<sub>D</sub> tartalmú tápnek a tejsavtermelő/coliform arányra kifejtett hatása dóziszfüggő volt, e tekintetben a 0,2%-os koncentráció bizonyult a legkedvezőbbnek.

## **A fulvosav és a huminsav összantioxidáns-kapacitásra (FRAP) és májra (AST aktivitás) kifejtett hatásából levonható megállapítások összefoglalása**

Sem a FA<sub>D</sub> sem a HA<sub>D</sub> nem változtatta meg a vérplazma összantioxidáns-kapacitását.

Az AST adatai és a szövettani vizsgálat alapján a tesztanyagoknak nem volt májkárosító hatása.

Egyik vizsgált paraméter esetében sem volt dóziszfüggő hatás, ami arra utal, hogy az FA<sub>D</sub> és a HA<sub>D</sub> – 0,1-0,8%-os tartományban alkalmazva a tápokban – e tekintetben biztonságosnak tekinthető.

## **A fulvosav és a huminsav pajzsmirigyre (TSH-, T<sub>3</sub>-, T<sub>4</sub>-plazmakoncentráció, T<sub>3</sub>/T<sub>4</sub>-hányados) kifejtett hatásából levonható megállapítások összefoglalása**

Sem a FA<sub>D</sub>, sem a HA<sub>D</sub> nem befolyásolta szignifikáns mértékben a vérplazma TSH-, T<sub>3</sub>- és T<sub>4</sub>-koncentrációját, valamint a T<sub>4</sub>/T<sub>3</sub>-hányadost.

A FA<sub>D</sub>-kiegészítés alkalmazott dózisa viszont igen szoros pozitív korrelációban (R=0,991) voltak a vérplazma TSH-szintjével, és negatívban a T<sub>4</sub>/T<sub>3</sub>-hányadossal (R=-0,966), azaz a szakirodalomban közölt hipotireoid hatásért nagy valószínűséggel a humuszanyagok FA frakciója felelős.

A FA<sub>D</sub> hatása dóziszfüggőnek tekinthető.

## **A fulvosavnak és a huminsavnak a vastagbél-tartalomra, valamint egyes szervek (máj, vese, csont, szőr) Fe-, Cu-, Zn- és Mn koncentrációjára kifejtett hatásából levonható megállapítások összefoglalása**

Mind a FA<sub>D</sub>, mind a HA<sub>D</sub> igen jól felszívódott és mindkét anyag jelentős vasforrásnak tekinthető.

A HA<sub>D</sub>-vel bevitt és felszívódott többletvas nem mutatható ki a májban és a vesében, sőt csökken azok vaskoncentrációja, ami arra utal, hogy – amennyiben még nem telített a felszívódott HA<sub>D</sub> vaskötő kapacitása – vasat vonhat el a szervekből (pl: máj, vese).

Ellentétben a vassal, a réz és a cink felszívódását mindkét tesztanyag dóziszfüggően javította, a HA<sub>D</sub> esetében ez a hatás 2-3-szor hatékonyabb volt.

Mindkét vizsgálati anyag csökkentette a csont cinktartalmát.

## **6. Új tudományos eredmények**

Kísérleteink alapján kijelenthetjük, hogy az FA-t és a HA-t – a különböző vizsgálati paraméterekre kifejtett eltérő hatásuk miatt – nem szabad egységes anyagnak tekinteni és hatásukat mindenképp célszerű külön-külön vizsgálni.

Mindkét tesztanyag nagyon erős és tartós humorális immunstimuláns hatású, ami az immunalapú hozamfokozás szempontjából jelentős lehet a nagyüzemi állattartásban.

A HA-tartalmú táp kedvezően módosítja a bélflóra egyensúlyi állapotát azáltal, hogy csökkenti a szulfitredukáló anaerob csírák számát és növeli a tejsavtermelő/coliform baktériumok arányát.

A humuszanyagok szakirodalomban is leírt enyhe hipotireoid hatása az FA-hoz köthető.

Nem tartható az a tudományos nézet, mely szerint a HA a humuszanyagok minden esetben nagy molekulatömeg és rosszul felszívódó frakciója.

Amennyiben még nem telített a felszívódott HA vaskötő kapacitása, akkor – jelentős vastartalma ellenére – vasat vonhat el a szervekből (pl: máj, vese).

A réz és a cink felszívódását – ellentétben a vassal – mindkét tesztanyag dóziszfüggően javítja, a HA esetében ez a hatás 2-3-szor hatékonyabb.

## 7. A doktori kutatás eredményeinek közzélése

### Lektorált folyóiratokban megjelent közlemények:

**Vucskits, A.V.**, Hullár, I., Bersényi, A., Andrásófszky, E., Tuboly, T., Szabó, J.: **A fulvosav és a huminsav hatásának vizsgálata. 1. Gazdasági mutatók, immunstimuláns hatás.** Magy. Áo. Lapja, Budapest, 2010. 132 (5), 278-284. (IF.: 0,2)

**Vucskits, A.V.**, Hullár, I., Bersényi, A., Andrásófszky, E., Kulcsár, M., Szabó, J.: **Effect of fulvic and humic acids on performance, immune response and thyroid function in rats.** J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr., 94 (2010), 6. 721-728. (IF.: 1,075)

Szabó, J., **Vucskits, A. V.**, Andrásófszky, E., Berta, E., Bersényi, A., Börzsönyi, L., Pálfi, V., Hullár, I.: **Effect of dietary electrolyte balance on production, immune response and mineral concentration of the femur in broilers.** Acta Vet. Hung., (2011) 59 (3) 295-310. (IF.: 0,673)

### Előadások nemzetközi konferenciákon:

**Vucskits, A. V.**, Hullár, I., Szabó, J.: **The effect of fulvic and humic acid on the synthesis of T3 and T4 hormones in rats.** 10<sup>th</sup> Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition (ESVCN), 2006. Október 5-7, Nantes (Franciaország), 114.

**Vucskits, A. V.**, Hullár, I., Andrásófszky, E., Berta, E., Bersényi, A., Szabó, J.: **Effect of different cation-anion balanced feed on the immune response and digestive enzyme levels of poultry.** 11<sup>th</sup> Congress of the European Society of Veterinary Comparative Nutrition (ESVCN), 2007. November 1-3, Lipcse (Németország), 42.

### Poszter prezentációk nemzetközi konferenciákon:

**Vucskits, A. V.**, Andrásófszky E., Bersényi, A., Szabó, J.: **The effect of fulvic and humic acid on the intensity of the immune response in rats.** 10<sup>th</sup> Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition (ESVCN), 2006. Október 5-7, Nantes (Franciaország), 113.

**Vucskits, A. V.**, Hullár, I., Szabó, J.: **The effect of fulvic and humic acid on the synthesis of T3 and T4 hormones in rats.** 10<sup>th</sup> Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition (ESVCN), 2006. Október 5-7, Nantes (Franciaország), 114.

**Vucskits, A. V.**, Hullár, I., Szabó, J.: **The effect of fulvic and humic acid on the Calcium, Phosphorus and Microelement (Cu, Zn, Mn, Fe) concentrations of bone in rats.** 10<sup>th</sup> Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition (ESVCN), 2006. Október 5-7, Nantes (Franciaország), 115.

**Vucskits, A. V.**, Hullár, I., Andrásófszky, E., Berta, E., Bersényi, A., Szabó, J.: **Influence of humic substances on the immune response of rats with special regard to their possible adverse effects.** 13th International Conference on Production Diseases in Farm Animals, 2007. Július 29 – Augusztus 4, Lipcse (Németország), 242

**Vucskits, A.V.**, Hullár, I., Andrásófszky, E., Hetényi, N., Szabó, J.: **The effect of Fulvic and Humic acid supplementation on the intensity of the immune response in rats.** 1st Central and Eastern European Laboratory Animal Conference (CEELA), Budapest, 2009. Május 23.

Szabó, J., **Vucskits, A. V.**, Andrásófszky, E., Berta, E., Bersényi, A., Börzsönyi, L., Hullár, I.: **Effect of dietary electrolyte balance on production, and mineral concentration of femur of broiler chickens.** 14<sup>th</sup> Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition, 2010. Szeptember 6-8, Zurich (Svájc), 105.

#### **Előadások hazai konferenciákon:**

**Vucskits, A. V.**, Berta, E., Andrásófszky, E., Szabó, J.: **A huminsav és a fulvonsav hatása a csont kalcium, foszfor és mikroelem (Cu, Zn, Mn, Fe) tartalmára patkányokban.** Akadémiai Beszámoló, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Budapest, 2005. 32. 19.

**Vucskits, A. V.**, Kulcsár, M., Hullár, I., Szabó, J.: **Huminsav és fulvonsav hatása a plazma TSH, T3 és T4 koncentrációjára patkányokban.** Akadémiai Beszámoló, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Budapest, 2005. 32. 20.

**Vucskits, A. V.**, Andrásófszky, E., Bersényi, A., Surján, J., Szabó, J.: **Huminsav és fulvonsav hatása az immunválasz intenzitására patkányokban.** Akadémiai Beszámoló, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Budapest, 2005. 32. 21.

**Vucskits, A. V.**, Hullár, I., Andrásófszky, E., Berta, E., Bersényi, A., Szabó, J.: **Szervetlen (ammónium-vanadát) és szerves – vanádium-humát – kötésben lévő vanádium hatásának összehasonlítása patkány kísérletben.** Akadémiai Beszámoló, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Budapest, 2007. 34. 10.



**Vucskits, A. V.**, Hullár, I., Andrásófszky, E., Hetényi, N., Szabó, J.: **A huminsav és a fulvosav hatása az immunválasz intenzitására patkányokban.** Akadémiai Beszámoló, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Budapest, 2008. 35. 5.

**Vucskits, A. V.**, Hullár, I., Andrásófszky, E., Szabó, J.: **A huminsav és a fulvosav hatása az immunválasz intenzitására patkányokban.** Akadémiai Beszámoló, MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága, Budapest, 2010. 37. 8.

## 8. Köszönetnyilvánítás

Elsőként szeretném megköszönni témavezetőim, **Dr Szabó József** és **Dr. Hullár István** segítségét. Mindkettejük szakmai hozzáértése és tapasztalata elengedhetetlen segítségnek bizonyult a disszertáció elkészítésében. Külön köszönöm nekik a türelmüket és, hogy a lelkiismeretem hangjai voltak a kellő pillanatokban.

Köszönettel tartozom az Állattenyésztési, takarmányozástani és Laborállat-tudományi intézet dolgozóinak, név szerint: **Andrásófszky Emesének, Berta Erzsébetnek, Krizsán Juditnak, Koncz Klárinak, Gerics Rózsának, Pöntör Ildikónak, dr. Hetényi Nikolettának, Aipel Lászlóné Natasának, dr. Bersényi Andrásnak, Szolnoki Zsoltnak és Hirt Károlynak** a munkám elvégzéséhez nyújtott segítségükért.

Az immunológia paraméterek feldolgozásában nyújtott segítségéért köszönettel tartozom **Dr. Tekes Lajosnak**. A szövettani vizsgálatok elvégzéséért **Dr. Glávits Róbertet** illeti köszönet. **Dr. Kulcsár Margitnak** a pajzsmirigy hormonok meghatározásában nyújtott segítségét köszönöm. A FRAP- és AST-vizsgálatok végzésében nyújtott segítségéért **Ribiczeyné Szabó Piroskának** tartozom köszönettel. **Dr. Szigeti Gábor** segítése a bakteriológia vizsgálatok elvégzésében volt nélkülözhetetlen.

Köszönöm **Dr. Csicsor Jánosnak**, hogy rendelkezésünkre bocsájtotta a kísérletek elvégzéséhez szükséges vizsgálati anyagokat (FA<sub>D</sub> és HA<sub>D</sub>).

Szeretnék köszönetet mondani **családomnak** a dolgozat elkészítése során tanúsított türelmükért és támogatásukért, nélkülük mindez nem jöhetett volna létre.