

Mikotoksyny i grzyby w ziarnie zbóż i paszach dla trzody chlewnej w Polsce

Antoni Jarczyk¹, Roman Jędryczko², Ewa Bancewicz², Michał Kaczyński¹

¹Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

²Weterynaryjne Laboratorium Diagnostyczne w Giętrzwaldzie

Mikotoksyny to metabolity grzybów pleśniowych występujące w roślinach, ziarnie zbóż i produktach spożywczych. Tę samą mikotoksynę mogą wytwarzać różne rodzaje grzybów, a w jednej próbce ziarna mogą znajdować się dwie lub więcej mikotoksyn [3]. Obecnie znanych jest ponad 400 mikotoksyn. Spośród nich za najgroźniejsze i najczęściej występujące uznaje się: deoksynivalenol (DON), zearalenon (ZEN), ochratoksynę A (OTA), fumonizynę (FUM), toksynę T-2 oraz aflatoksyny (AFT). Wszystkie mikotoksyny upośledzają odpowiedź immunologiczną organizmu, przypisuje się im także redukcję aktywności enzymów [24]. Długotrwała ekspozycja organizmu na mikotoksyny może obniżyć poszczepienną odpowiedź immunologiczną [25].

Mikotoksyny wykazują powinowactwo do konkretnych narządów i tam powodują określone reakcje fizjologiczne lub zmiany patologiczne. Na przykład zearalenon (ZEN) posiada estrogenne właściwości oddziaływania, wywołując ruje rzekome u loch oraz patologie (atrezje i atrofie) w obrębie jajnika i rogów macicy [7, 8, 10, 19]. Kancero- i teratogeny efekt działania mikotoksyn wyraża się także wzrostem zamieralności embrionów. Wpływ aflatoksyn na występowanie białaczki – choroby nowotworowej, u ludzi zamieszkujących tzw. domy rakowe, opisywano już w latach siedemdziesiątych ubiegłego stulecia [1]. Coraz częściej wskazuje się na możliwość interakcji pomiędzy działaniem mikotoksyn i patogennymi bakteriami [5]. Wykazywane są także interakcje lub sumujące działanie dwóch lub kilku mikotoksyn [6, 24]. Aflatoksyna B1 może wpływać nie tylko na raka wątroby lub skóry, ale także ulegać przetworzeniu w metabolit – aflatoksynę M1, stwierdzaną w mleku krowim i produktach mleczarskich. Także ZEN może przenikać do mleka, np. poprzez podawanie krowom trawy pastwiskowo-łąkowej, w której stwierdzano tę toksynę w zimnych miesiącach roku [23]. OTA może być przyczyną nefropatii oraz chorób przewodu pokarmowego [13, 16, 17, 21]. Z kolei DON może oddziaływać neurodegeneracyjnie oraz zmniejszać apetyt, a nawet prowadzić do zaprzestania pobierania paszy i powodować wymioty, stąd jego inna nazwa – womitoksyna [2, 3, 20].

Ciągle trwa dyskusja nad dopuszczalnymi stężeniami mikotoksyn w paszach dla zwierząt oraz w produktach dla ludzi. W Niemczech średnie pobranie OTA w latach 1996-1999 było znacząco różnicowane i wynosiło od 28,7 do 290,8 ng/dzień/mieszkańca [21]. W Polsce stwierdzano OTA w surowicy krwi pacjentów przebywających w szpitalu [17].

Z dotychczasowych badań wynika, że częstość występowania i wielkość stężeń mikotoksyn w paszach dla zwierząt zależy między innymi od:

- wilgotności i temperatury zewnętrznej podczas wegetacji i żniw;
- stopnia zanieczyszczenia ziarna zbóż glebą, plewami i uszkodzonym ziarnem (pośladem);
- odmian genetycznych roślin odpornych na choroby grzybowe;
- okresu i warunków magazynowania ziarna.

Objawy kliniczne mikotoksykozy u zwierząt są różne i zależą nie tylko od stężenia mikotoksyn, ale również od uwarunkowań genetycznych zwierząt oraz ich ogólnego stanu zdrowia, prawidłowego zbilansowania wartości pokarmowej dziennych dawek, w tym witamin oraz makro- i mikro elementów, a także wieku zwierząt i statusu zdrowotnego fermi. Próby detoksykacji skażonych pasz preparatami glinokrzemianowymi lub *Carbo medicinalis* (po-

wierzchnia chłonna ok. 912 m²/g) nie dały niestety pożądanego rezultatu [14, 15], zwłaszcza przy wysokich stężeniach.

Przeprowadzono badania, których celem była ocena mikologiczna pasz, jakimi dysponują fermi trzody chlewnej. Określono stężenie najczęściej stwierdzanych obecnie mikotoksyn, tj. DON, ZEN, OTA, AFT, FUM i toksyny T-2, w komponentach paszowych oraz mieszankach, a także w surowicy krwi świń, z uwzględnieniem kolejnych sezonów roku, regionów kraju, rodzajów pasz oraz wielkości wytwórców pasz.

Próbki pasz i surowicy krwi pochodziły z gospodarstw, a także wytwórni paszowych zlokalizowanych na terenie całego kraju, w roku gospodarczym 2010/2011 (od zbioru, poprzez magazynowanie, do następnego zbioru). Próbki analizowano w Weterynaryjnym Laboratorium Diagnostycznym w Giętrzwaldzie.

Łącznie wykonano 643 analizy próbek pasz i 84 próbek surowicy krwi, określając stężenie mikotoksyn, a ponadto zbadano 111 próbek pod względem zanieczyszczenia koloniami grzybów pleśniowych. Próbki pasz i surowicy pochodziły często z tzw. ferm problemowych, w których notowano nieokreślone zachorowania lub raptowne zmniejszenie produktywności zwierząt. Duża część próbek pochodziła z wytwórni pasz, które sprawdzały jakość zakupionego surowca do produkcji mieszank.

Oznaczenie mikotoksyn przeprowadzono stosując łączone techniki separacji z użyciem kolumnienek powinowactwa immunologicznego i wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPCL) z detekcją fluorescencyjną UV. Postępowano zgodnie z metodyką firmy Vicam® Company.

W badaniach uwzględniono następujące czynniki:

- sezon: 1 – VIII-X (2010 r. po zbiorach), 2 – XI-I (2011 r.), 3 – II-IV (2011 r.), 4 – V-VII (2011 r.);

- procentowy udział liczby mikotoksyn w jednej próbce: 1 – próbki wolne od mikotoksyn, 2-6 – próbki zawierające od jednej do pięciu mikotoksyn;

- region: 1 – północno-wschodni, 2 – północno-zachodni, 3 – południowo-zachodni, 4 – południowo-wschodni;

- producenci: 1 – małe fermi rolników indywidualnych, 2 – duże fermi i wytwórnie pasz;

- rodzaj pasz:

- ziarna: 1 – pszenica, 2 – kukurydza, 3 – jęczmień + owies, 4 – żyto + pszenżyto, 5 – soja, 6 – otręby pszenne;

- mieszanki: 1 – PR, 2 – PLK, 3 – starter + grower, 4 – PT1 + PT2, 5 – inne.

W obliczeniach statystycznych zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji przy użyciu programu SPSS. Istotności różnic między grupami określano stosując test Tukey'a.

W obliczeniach procentowego udziału mikotoksyn ponad wartości dopuszczalne, określone w Dz.U. z roku 2004 nr 162 poz. 1704 oraz SANCO/00226/2005 Dz. Urzędowy UE z 2006 r., przyjęto następujące wartości: DON – 800 µg/kg, ZEN – 100 µg/kg, OTA – 50 µg/kg, AFT – 20 µg/kg. Za dopuszczalną liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) grzybów w 1 g przyjęto 200 tys.

W tabeli 1. podano średnie zawartości mikotoksyn w paszach i surowicy krwi wieprzowej oraz średnią liczbę kolonii grzybów pleśniowych.

Tabela 1

Średnie stężenia mikotoksyn ($\bar{x} \pm Sd$) w ziarnie zbóż, mieszankach paszowych (µg/kg) i surowicy krwi świń (µg/l) oraz średnie liczby kolonii grzybów pleśniowych (tys. jtk/g)

Mikotoksyna	Stężenie	Wartości		Ponad zalecenia UE* (%)
		min.	maks.	
DON	182,5 ±335,2	0,1	2505,0	4,0
ZEN	38,3 ±23,9	0,1	1393,5	7,4
OTA	1,9 ±6,9	0,1	79,5	0,7
AFT	0,4 ±0,0	0,4	0,4	0
T-2	55,8 ±61,2	24,0	251,0	–
FUM	1,7 ±4,3	0,1	17,1	–
Kol. grzybów	156,6 ±640,0	9	2000	11,7
Surowica krwi				
ZEN	1,5 ±1,47	0,10	7,80	–
OTA	0,58 ±0,44	0,10	1,90	–

*SANCO/00226/2005; Dz. Urzędowy UE 23.08.2006

Rok 2010/2011, rozpatrywany od okresu zbiorów do zużycia surowców paszowych, był względnie bezpieczny. Jednak w przypadku DON i ZEN od 4 do 7% oznaczeń miało wartości większe od uznawanych obecnie za bezpieczne (odpowiednio do 800 i 100 µg/kg). Wartości maksymalne wskazują, że niektóre pasze mogły być przyczyną zatrucia zwierząt lub obniżenia odporności. OTA i AFT były na bardzo niskim poziomie, podobnie jak fumonizyny. Stężenie toksyny T-2 w niektórych próbkach osiągało wartość 251 µg/kg (średnio 55,8). Surowica krwi świń zawierała niewielkie średnie stężenia OTA i ZEN. Nawet wartości maksymalne można uznać za niewielkie. Zanieczyszczenia grzybami ponad dopuszczalną normę (200 tys. jtk/g) wskazują, że prawie 12% pasz mogło już w trakcie pobierania próbek stanowić zaczyn do produkcji toksyn.

W krajowych warunkach we wcześniejszych latach notowano znaczące wahania stężeń mikotoksyn. W latach 2002, 2003 i 2004 koncentracja ZEN (516 próbek) kształtowała się na poziomie odpowiednio 105,3, 41,8 i 18,9 µg/kg, a DON (547 próbek) odpowiednio 17,3, 75,2 i 27,5 µg/kg [3], natomiast w roku 2007 – ZEN i DON stwierdzano na średnim poziomie 19,0 i 139,0 µg/kg [2]. Notowane są zwykle wysokie odchylenia standardowe, wynoszące od 100 do 150% średnich, a wartości maksymalne osiągały wartość 4074 µg/kg w przypadku ZEN i 1552 µg/kg w przypadku DON. W latach 2002-2004 w Polsce [3] stężenia OTA (747 próbek) wynosiły średnio 1,1-2,3 µg/kg, a AFT – 0,7-0,9 µg/kg (434 próbek). Podobnie niskie stężenia OTA i AFT stwierdzano w roku 2007, badając 754 próbki [2]. Można uznać, że zagrożenie tymi mikotoksynami było i jest w Polsce małe.

Stężenie fumonizyny kształtowało się na niskim poziomie (tab. 1). W Wielkiej Brytanii w 67 próbkach kukurydzy średnie stężenie tej mikotoksyny wynosiło 5600 µg/kg, a toksyny T-2 średnio 80 µg/kg [22]. OTA w 17% ogólnej liczby próbek przekraczała 4 µg/kg [24]. Wielkości takie w warunkach produkcyjnych – według zaleceń niektórych autorów – należy przyjąć za maksymalne, nie raz bowiem w paszy działanie sumujące obejmuje kilka mikotoksyn. Granice dopuszczalnych stężeń są ciągle dyskutowane. Sugeruje się ich zmniejszenie, np. OTA z 50 do 10-25 µg/kg w zależności od grup wiekowych świń. Z własnych doświadczeń wynika, że dopuszczalne stężenie ZEN na poziomie 100 µg/kg powinno obowiązywać również dla loch i tuczników; obecnie jest to 200-250 µg/kg. Lochy z mlekiem przekazują toksyny prosiętom [13]. Objawia się to nekrozą ogonków tuż po urodzeniu się prosiąt lub tzw. rozkrocznością. Spośród tuczników wybierane są czasem loszki do remontu stada. Dzieje się tak szczególnie w mniejszych fermach. Duże stężenia toksyn są trudne do efektywnego i ekonomicznie zasadnego unieszkodliwienia poprzez stosowanie detoksykantów [14, 15].

Liczba grzybów nie zawsze koresponduje ze stężeniem mikotoksyn. We wcześniejszej pracy [16] wykazano, że mniejsze zanieczyszczenie grzybami, na poziomie 10-100 tys. jtk/g, w 46% próbek mieszanek oraz 12,5% próbek ziarna wiązało się ze stężeniami OTA na poziomie 31-37 µg/kg. Większe zanieczyszczenia grzybami, powyżej 100 tys. jtk/g, rzadko wiązało się z jeszcze większymi stężeniami OTA. Współczynnik korelacji (r) pomiędzy liczbą kolonii w próbkach a stężeniem OTA był wysoki, wynosił 0,774, ale tylko w okresie wiosennym.

Jak już zaznaczono, surowica krwi (tab. 1) zawierała niewielkie średnie stężenia OTA i ZEN. Wielkości maksymalne też były niewielkie. W metodykach badań zwykle nie podaje się, w jakim okresie po odpasie pobierano próbki krwi. Maksymalne stężenie ZEN w surowicy krwi występuje po 6 godzinach od pobrania paszy przez zwierzę [11]. W związku z tym, lepszym wskaźnikiem zagrożenia mogą być wybrane narządy organizmu zwierząt. Metodę określania zawartości OTA w tuszach świń na postawie jej zawartości w nerce zastosowano w Danii [17]. W innych badaniach [21] loszki dwóch grup, od wieku 47 dni do 60. dnia żywione naturalnie skażoną paszą zawierającą 585 i 948 µg/kg ZEN, miały jej w wątrobie odpowiednio 128 i 80 µg/kg, a w nerce 5,1 i 23,4 µg/kg, mimo że w surowicy krwi wykryto niewielkie stężenie (0,16 i 0,18 µg/l). Można przyjąć, że surowica krwi jest niepewnym wskaźnikiem ogólnej zawartości mikotoksyn w organizmie jeżeli krew pobierana jest przed odpasem. Potwierdzają to również inne badania [10]. W badaniach Obremskiego i wsp. [19], w których stosowano w dużą dawkę ZEN (ok. 20 mg/dzień/szt., czyli 10 000 µg), w surowicy krwi znajdowano jej łącznie z α-ZEN od 1,7 do 7,7 µg/l. Rogiewicz [21] stwierdziła znaczące ilości ZEN w kale omawianych wyżej dwóch grup loszek, odpowiednio 262 i 394 µg/kg.

Wskazuje to, że tą drogą zwierzęta są w stanie wydalac znaczącą ilość toksyny. Może to jednak następować tylko w określonym czasie od pobrania skażonej paszy, kiedy nie została jeszcze przełamana zdolność organizmu do jej efektywnego wydalania. Czasową zdolność wydalania toksyny lub jej rozkładu stwierdzono w badaniach własnych [12], w których warchlaki dwóch grup (młodsze i starsze) w połowie tuczu otrzymały paszę znacznie zanieczyszczoną grzybami z rodzaju *Penicillium* sp. (200 razy przekroczone PN 1994). Zwierzęta obu grup były w stanie przez ok. 15 dni utrzymać wysokie przyrosty dobowe, a po okresie latencji nastąpiło radykalne zmniejszenie przyrostów trwające do uboju (P<0,01).

W badaniach wykazano, że cechy osobnicze także mogą różnicować kumulację toksyn i skalę niekorzystnych zmian w organizmie. Potwierdzają to badania [7, 8], w których wykazano bardzo zróżnicowane zmiany patomorfologiczne w obrębie rogów macicy i jajników u niedojrzałych pciowo loszek w wieku około 60 dni.

Kształtowanie się średnich stężeń mikotoksyn w poszczególnych sezonach roku przedstawiono w tabeli 2.

Jak wynika z przedstawionych danych, najmniejsze stężenia wszystkich mikotoksyn stwierdzono w okresie trzech pierwszych miesięcy po zbiorach (VIII-X). Koncentracja DON, OTA, FUM i T-2 stopniowo zwiększała się w kolejnych sezonach (P<0,05 i 0,01), z wyjątkiem ZEN, którego stężenie zmniejszało się od lutego do lipca. Zmniejszała się także ilość grzybów w próbkach. Trudno jednak określić, czy występuje tutaj jakieś powiązanie. Stężenia DON i ZEN miały bardzo wysokie odchylenia standardowe, często przekraczające nawet 200%.

Jak już zaznaczono, niskie temperatury miesięcy zimowych (listopad 2010 – styczeń 2011) nie hamowały procesu tworzenia się ZEN. W miesiącach maj-lipiec stężenie tej mikotoksyny było prawie o połowę mniejsze. Podobne zjawisko wystąpiło także w innych badaniach, w trzech kolejnych latach 2002-2004 [3], w których stężenie ZEN (516 próbek) było najwyższe w miesiącach styczeń-marzec (160,6 µg/kg) i zmniejszyło się do 55,7 oraz 28,2 µg/kg w miesiącach IV-IX, czyli od trzech do pięciu razy (P<0,05; 0,01).

Tabela 2

Średnie stężenia mikotoksyn w ziarnie zbóż i mieszkankach paszowych (µg/kg) oraz średnie liczby kolonii grzybów pleśniowych (tys. jtk/g) w sezonach jednego roku wegetacyjnego od VIII 2010 r. do VII 2011 r. ($\bar{x} \pm Sd$)

Sezon	n	Średnia	Wartości	
			minimalne	maksymalne
DON				
VIII-X	63	87,0 ^b ±96,0	0,1	406,7
XI-I	54	87,0 ^b ±77,3	0,1	321,5
II-IV	50	298,0 ^a ±452,6	0,9	2505
V-VII	36	328,8 ^a ±505,7	0,9	1888,0
ZEN				
VIII-X	64	13,3 ±26,5	0,1	168,7
XI-I	39	64,1 ± 23,3	0,1	1397,5
II-IV	38	53,9 ±93,7	0,1	492,9
V-VII	35	39,7 ±97,6	0,1	548,0
OTA				
VIII-X	51	1,1 ±3,6	0,1	23,5
XI-I	47	2,0 ±2,5	0,1	8,4
II-IV	29	1,1 ±1,8	0,4	8,0
V-VII	27	4,1 ±15,1	0,4	79,5
AFT				
VIII-X	8	0,4 ±0,0	0,4	0,4
XI-I	0	–	–	–
II-IV	5	0,4 ±0,0	0,4	0,4
V-VII	4	0,4 ±0,0	0,4	0,4
T-2				
VIII-X	18	33,8 ^b ±21,7	24,0	102,0
XI-I	3	51,3 ±47,4	24,0	106,0
II-IV	9	40,7 ±36,1	24,0	135,0
V-VII	20	83,1 ^a ±84,3	24,0	251,0
FUM				
VIII-X	12	0,1 ^b ±0,0	0,09	0,2
XI-I	3	0,2 ^b ±0,2	0,09	0,4
II-IV	3	9,5 ^a ±6,7	0,09	17,1
V-VII	0	–	–	–
Kol. grzybów (tys. jtk/g)				
VIII-X	49	131,3 ^{bc} ±324	9,0	1430
XI-I	18	397,4 ^a ±718	9,0	2000
II-IV	22	133,2 ^{bc} ±303	9,0	1330
V-VII	22	39,5 ^{bd} ±179	9,0	841

a, b – P<0,05; A, B – P<0,01

Tabela 3

Procentowy udział różnej liczby mikotoksyn w jednej próbce

Liczba mikotoksyn w jednej próbce	Próbki ogółem (%)	Próbki z wartościami 0 i minimalnymi (%)	Próbki z wartościami powyżej norm UE (%)
0 + minimalne	37,4	100,0	0
1	4,9	27,6	8,5
2	2,9	62,9	1,9
3	37,6	37,9	3,6
4	17,1	28,6	0
5	0,1	100,0	20,0
Ogółem	100,0	37,4	2,9

Samoistny rozpad mikotoksyn w okresie magazynowania rzadko jest przedstawiany w pracach naukowych. Warto wspomnieć, że zjawisko wytwarzania ZEN w niskich temperaturach roku stwierdzono także w trawie w końcowym okresie wegetacji. W grudniu zawartość tej toksyny była najwyższa i wynosiła 1588 µg/kg [23].

Jeśli chodzi o DON, dane zawarte w tabeli 2. wskazują, że w ciepłych miesiącach (maj-lipiec) stężenie tej mikotoksyny było najwyższe ($P < 0,01$). Jednak w roku 2002 [3] najwyższe, ale ogólnie niskie stężenie wystąpiło w I kwartale (styczeń-marzec), średnio 31,8 µg/kg. W 2003 roku najwyższe średnie stężenie DON (108,3 µg/kg) znów przypadło na miesiące ciepłe (kwiecień-czerwiec). Deoksynivalenol, podobnie jak zearalenon, fumonizynę oraz toksynę T-2 wytwarzają grzyby z rodzaju *Fusarium*. Grzyby te mogą wytwarzać różne toksyny w dużej skali temperatur, zarówno w chłodnych, jak i ciepłych porach roku.

Liczba kolonii grzybów w próbkach stopniowo malała w kolejnych sezonach roku (tab. 2). We wcześniejszych badaniach własnych [12] największą ilość kolonii grzybów stwierdzano w ziarnie zbóż w okresie tuż przed żniwami (lipiec-wrzesień). Warunki magazynowania ziarna w małych fermach były wówczas (1991-1993 r.) czasem bardzo złe, np. w betonowych boksach bez izolacji podłogowej.

W tabeli 3. przedstawiono procentowe udziały różnej liczby mikotoksyn w jednej próbce.

Z danych zawartych w tabeli 3. wynika, że 37,4% próbek nie zawierało mikotoksyn lub stężenie było minimalne. Jednak prawie 55% próbek zawierało od 3 do 5 różnych mikotoksyn. Od 1,9 do 8,5% z nich przekraczało dopuszczalną normę UE. W innych badaniach [3], przeprowadzonych w latach 2002-2004, tylko 25,4% próbek było wolnych od mikotoksyn, a 1,4% zawierało cztery toksyny; 9,5% – trzy; 27,8% – dwie, a 36,0% – jedną.

Zjawisko występowania wielu mikotoksyn w jednej próbce opisywano także w innych pracach [2, 22]. Prawdopodobnie łączy się to z sukcesją przejmowania substratu, co opisywano już w roku 1980 [4]. W innych badaniach [22] wykryto 23 mikotoksyny fuzaryjne w 67 próbkach kukurydzy. W warunkach krajowych w okresie magazynowania ziarna pszenicy nastąpił proces rozpadu OTA oraz wzrostu ZEN. W czasie dwóch miesięcy redukcja OTA wynosiła 25,8% (z 185 do 141 µg/kg) [3]. Po kolejnych czterech miesiącach redukcja osiągnęła 80,5% wartości początkowej. Z kolei stężenie ZEN w opisywanej pszenicy wzrosło w czasie 6 miesięcy ponad 6-krotnie (z 9,7 do 59,0 µg/kg), a w następnych czterech miesiącach nawet do 480 µg/kg. Po tym okresie następowało stopniowe zmniejszanie się koncentracji obydwu mikotoksyn. Jak widać, tworzenie się i redukcja OTA i ZEN w pojedynczej partii paszy jest zjawiskiem występującym w okresie magazynowania. W określonej fazie tworzenia się mikotoksyn istnieje prawdopodobieństwo współdziałania (interakcji) lub addytywnego działania dwóch, a nawet więcej mikotoksyn.

W tabeli 4. przedstawiono średnie stężenia mikotoksyn w różnych regionach Polski.

Dane wskazują, że regiony różnicują statystycznie istotnie stężenia analizowanych mikotoksyn oraz grzybów. Średnie i maksymalne wartości zazwyczaj były największe w północno-wschodniej części Polski, a najmniejsze zwykle w części południowo-zachodniej. Zaskakujące są wyniki liczby kolonii grzybów, które wskazują na odwrotną zależność, tzn. najmniejsze zanieczyszczenie stwierdzono w północno-wschodnim regionie kraju, a największe w południowo-wschodnim. Być może w regionie północ-

Tabela 4

Średnie stężenia mikotoksyn w ziarnie zbóż i mieszankach paszowych (µg/kg) oraz średnie liczby kolonii grzybów pleśniowych (tys. jtk/g) w różnych regionach Polski ($\bar{x} \pm Sd$)

Regiony	n	Średnia	Wartości	
			minimalne	maksymalne
DON				
płn-wsch.	110	229,7 ± 369	0,1	1888
płn-zach.	80	128,2 ± 294	0,1	2505
płd-zach.	3	46,6 ± 40	0,9	88
płd-wsch.	10	124,4 ± 74	0,9	251
ZEN				
płn-wsch.	93	52,0 ± 163	0,1	1397
płn-zach.	70	24,2 ± 49	0,1	242
płd-zach.	3	7,6 ± 6	0,1	11
płd-wsch.	10	22,6 ± 33	0,1	103
OTA				
płn-wsch.	86	1,0 ^b ± 1,9	0,1	12,8
płn-zach.	55	2,0 ^b ± 3,7	0,1	23,5
płd-zach.	2	0,4 ^b ± 0,0	0,4	0,4
płd-wsch.	11	8,5 ^a ± 23,6	0,4	79,5
AFT				
płn-wsch.	4	0,4 ± 0,0	0,4	0,4
płn-zach.	9	0,4 ± 0,0	0,4	0,4
płd-zach.	1	0,4 ± 0,0	0,4	0,4
płd-wsch.	3	0,4 ± 0,0	0,4	0,4
T-2				
płn-wsch.	45	56,3 ± 64	24,0	251,0
płn-zach.	3	41,3 ± 15	24,0	50,0
płd-zach.	2	65,0 ± 58	24,0	106,0
płd-wsch.	0	0	0	0
FUM 1				
płn-wsch.	2	2,0 ± 2,3	0,4	3,6
płn-zach.	15	1,8 ± 4,6	0,09	17,1
płd-zach.	0	0	0	0
płd-wsch.	1	0,1 ± 0,0	0,1	0,1
Kol. grzybów (tys.jtk/g)				
płn-wsch.	76	47,0 ± 101	0,0	509,0
płn-zach.	26	400,1 ± 682	0,0	2000,0
płd-zach.	8	259,6 ± 461	0,2	1150,0
płd-wsch.	1	1330,0 ± 0,0	1330,0	1330,0

a, b – $P < 0,05$

no-wschodnim grzyby wcześniej dokonały przetworzenia substratu, mając na przykład więcej wilgoci przy niższej temperaturze – bardziej dogodnej dla rozwoju oraz inicjacji produkcji toksyn.

Można tu dodać, że klimat regionów w Polsce jest znacznie zróżnicowany. Region południowo-zachodni jest najcieplejszy, a północno-wschodni najchłodniejszy. Powoduje to, że okres wegetacji upraw zbożowych różni się o około 15 dni.

Zróżnicowane występowanie stężeń mikotoksyn w różnych regionach kraju w tym samym roku wykazano także w innych badaniach [9]. W późniejszych badaniach krajowych [2], obejmujących wyniki z roku 2007 (682 analizy), także wykazano, że największe stężenie ZEN wystąpiło w regionie północno-wschodniej Polski (26,1 µg/kg, maks. 408,9 µg/kg), a najmniejsze w południowo-zachodnim (1,6 µg/kg, maks. 3,9 µg/kg). Stężenie DON było największe w regionie północno-zachodnim (średnio 369 µg/kg, maks. 2659 µg/kg), a prawie o połowę mniejsze wystąpiło w regionie północno-wschodnim. Z danych zawartych w tabeli 4. wynika, że warunki klimatyczne są raczej nieprzewidywalne, bo w roku 2011 zależności te układały się odwrotnie, to znaczy w regionie północno-wschodniej Polski stężenia DON były prawie dwa razy większe niż w regionie północno-zachodnim, ale na poziomie 229,7 wobec 128,2 µg/kg. Również stężenie ZEN było dwukrotnie większe niż w regionie północno-zachodnim (52,0 wobec 24,2 µg/kg). W regionie południowo-wschodnim z kolei występowały dość znaczące wartości stężeń DON (124,4 µg/kg) – zbliżone do regionu północno-zachodniego.

W tabeli 5. przedstawiono wyniki zawartości mikotoksyn w zależności od skali produkcji pasz.

W małych fermach DON, ZEN i OTA występowały w mniejszych stężeniach niż w dużych oraz w komercyjnych wytwórniach pasz. Mniejsze były także wartości maksymalne oraz odchylenia standardowe.

Wytwórnie pasz i duże fermy zmuszone są do zakupu komponentów paszowych, niejednokrotnie importowanych, dlatego są one częściej badane – stąd też większa liczba próbek. Zaskakujące, że

Tabela 5

Średnie stężenia mikotoksyn w ziarnie zbóż i mieszankach ($\mu\text{g/kg}$) oraz średnie liczby kolonii grzybów pleśniowych (tys. jtk/g) u producentów o dużej i małej skali produkcji pasz ($\bar{x} \pm \text{Sd}$)

Skala produkcji	n	Średnia	Wartości	
			minimalne	maksymalne
DON				
mała	55	119,6 \pm 120,6	0,1	690,0
duża	145	206,6 \pm 384,4	0,1	2505,0
ZEN				
mała	40	11,6 \pm 20,8	0,1	113,0
duża	134	46,3 \pm 139,9	0,1	1397,0
OTA				
mała	38	1,3 \pm 1,8	0,1	7,1
duża	114	2,1 \pm 7,9	0,1	79,5
AFT				
mała	9	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
duża	8	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
T-2				
mała	4	37,0 \pm 15,0	24,0	50,0
duża	46	57,4 \pm 63,5	24,0	251,0
FUM				
mała	8	0,1 \pm 0,0	0,09	0,22
duża	10	3,0 \pm 5,5	0,09	17,1
Kol. grzyb. (tys. jtk/g)				
mała	31	356,9 ^a \pm 640	0,0	509,0
duża	80	79,0 ^b \pm 219	0,0	2000,0

A, B – $P < 0,01$

były one mniej zagrzybione ($P < 0,01$). Małe zagrzybienie pasz z zakupu może się wiązać z ich czyszczeniem mechanicznym, które wykonuje się rutynowo w dużych gospodarstwach rolnych. Z kolei duże zagrzybienie stwierdzone w małych fermach sugeruje, że decyzje o badaniu pasz w laboratorium mogły wynikać z objawów chorobowych, które występowały w tych fermach. W małych gospodarstwach, z uwagi na koszty, zbyt rzadko instalowane są urządzenia czyszczące i dosuszające ziarno zbóż. Pyły, plewy oraz uszkodzone ziarniaki zawierają olbrzymie ilości zarodników grzybów, co w sprzyjających warunkach powoduje szybki ich rozwój [3, 12, 18]. Nieczęsto zwraca się uwagę na możliwość wystąpienia toksykozy, czyli chorób wywołanych inwazją grzybów, które mogą przejść w formę posocznicy (aspergillozy, kandydozy i inne).

W tabeli 6. podano stężenia mikotoksyn oraz występowanie kolonii grzybów w ziarnie zbóż, soi oraz otrębach pszenicznych.

Kukurydza statystycznie wysoko istotnie przewyższała pozostałe komponenty pod względem stężenia DON. Również otręby pszenne zawierały istotnie więcej tej toksyny niż soja oraz jęczmień. Jęczmień, żyto i pszenżyto miały mniejsze stężenie DON niż pszenica, co jest zjawiskiem rzadkim. Tylko kukurydza przekroczyła pod względem wartości maksymalnej dopuszczalny poziom, wynoszący 800 $\mu\text{g/kg}$. Żyto i pszenżyto miały prawie pięciokrotnie więcej ZEN niż pszenica oraz statystycznie istotnie więcej niż soja i otręby pszenne. Kukurydza okazała się najbardziej skażona pod względem zawartości toksyny T-2. OTA i AFT wykrywano w minimalnych ilościach (tab. 6).

Średnia liczba kolonii grzybów była największa w ziarnie kukurydzy (243,6 tys. jtk/g), co wskazuje, że grzyby te mogły nadal wpływać na wzrost stężenia toksyn. Dość duże zanieczyszczenie grzybami wystąpiło również w pszenicy (140 tys. jtk/g).

W 2002 roku ziarno zbóż zawierało DON i ZEN odpowiednio 16,6 i 166,6 $\mu\text{g/kg}$, a w roku 2003 odpowiednio 59,0 i 40,4 $\mu\text{g/kg}$ [3]. W 2002 roku na 81 próbek, w których stężenia mikotoksyn były powyżej norm UE, aż 59 to próbki kukurydzy. Z innych źródeł [2] wynika, że zanieczyszczenie kukurydzy ZEN występowało w granicach od 52 do 91% próbek, a stężenia określano od 5 $\mu\text{g/kg}$ do 21 mg/kg. Można więc uznać, że kukurydza jest najmniej bezpiecznym komponentem w mieszankach paszowych, szczególnie dla prosiąt i warchlaków.

W tabeli 7. podano wartości stężeń mikotoksyn i liczbę kolonii grzybów w mieszankach paszowych.

Wyniki (tab. 7) wskazują na niskie zanieczyszczenie mieszanek, w wielu przypadkach kilkakrotnie mniejsze niż w zbożach. Nawet wartości maksymalne najczęściej mieściły się w granicach wartości dopuszczalnych. Jedynie w mieszankach określanych jako „inne” maksymalna wartość ochratoxyny A przekraczała o 29,5 $\mu\text{g/kg}$ wartość dopuszczalną (50 $\mu\text{g/kg}$).

W roku 2003 w przypadku DON stwierdzono inną zależność, tzn. w mieszankach było go prawie dwukrotnie więcej niż w ziarnie. Stężenia pozostałych mikotoksyn były ogólnie bardzo niskie

Tabela 6

Średnie stężenia mikotoksyn ($\bar{x} \pm \text{Sd}$) w ziarnie zbóż, soi i otrębach pszenicznych ($\mu\text{g/kg}$) oraz średnie liczby kolonii grzybów pleśniowych (tys. jtk/g)

Wyszczególnienie	n	Średnia	Wartości	
			minimalne	maksymalne
DON				
pszenica	31	124,0 ^a \pm 149,4	0,1	795,1
kukurydza	33	578,0 ^a \pm 654,5	39,2	2505,0
jęczmień+owies	11	66,4 ^{bb} \pm 77,2	9,0	251,0
żyto+pszenżyto	10	99,3 ^b \pm 110,4	0,1	299,7
soja	6	37,6 ^{bb} \pm 37,4	9,0	102,4
otręby	5	185,3 ^{bb} \pm 179,0	0,1	441,5
ZEN				
pszenica	24	33,4 \pm 59,5	0,1	242,6
kukurydza	33	81,8 \pm 129,8	0,1	548,0
jęczmień+owies	8	28,7 \pm 57,6	0,1	168,7
żyto+pszenżyto	9	158,7 ^a \pm 464,6	0,1	1397,0
soja	6	9,8 ^b \pm 10,6	0,1	23,1
otręby	5	14,0 ^b \pm 14,3	0,5	37,4
OTA				
pszenica	26	0,4 \pm 0,4	0,1	2,6
kukurydza	24	0,7 \pm 1,3	0,1	7,1
jęczmień+owies	12	3,2 \pm 6,7	0,1	23,5
żyto+pszenżyto	11	1,6 \pm 2,7	0,1	8,4
soja	6	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
otręby	4	0,6 \pm 0,7	0,1	1,6
AFT				
pszenica	8	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
kukurydza	8	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
jęczmień+owies	8	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
żyto+pszenżyto	8	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
soja	8	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
otręby	8	0,4 \pm 0,0	0,4	0,4
T-2				
pszenica	10	24,7 \pm 1,9	24,0	30
kukurydza	13	100,9 \pm 94,9	24,0	251
jęczmień+owies	–	–	–	–
żyto+pszenżyto	3	36,0 \pm 12,5	24,0	49
soja	4	29,2 \pm 10,5	24,0	45
otręby	4	24,2 \pm 0,5	24,0	25
FUM				
pszenica	1	17,1 ^a \pm 0,0	17,1	17,1
kukurydza	2	4,1 ^b \pm 5,3	0,4	7,9
jęczmień+owies	1	0,9 \pm 0,0	0,9	0,9
żyto+pszenżyto	1	0,9 \pm 0,0	0,9	0,9
soja	1	0,9 \pm 0,0	0,9	0,9
otręby	1	0,9 \pm 0,0	0,9	0,9
Kol. grzyb. (tys. jtk/g)				
pszenica	12	140,0 \pm 377	0,2	1330
kukurydza	8	243,6 \pm 401	0,9	1150
jęczmień+owies	5	37,0 \pm 35	6,5	78,2
żyto+pszenżyto	7	65,0 \pm 47	4,2	145,0
soja	5	21,6 \pm 43	0,9	100,0
otręby	4	15,5 \pm 17	2,2	395,0

a, b – $P < 0,05$; A, B – $P < 0,01$

i wyrównane w ziarnach zbóż oraz mieszankach. W roku 2007 [2] natomiast notowano w mieszankach dwukrotnie mniejsze stężenia DON, ZEN i OTA niż w ziarnie, czyli podobnie jak w roku 2010/2011. Jest prawdopodobne, że przyczyną poprawnego wyniku są coraz częstsze badania mikologiczne, zlecane przez producentów przed zakupem pasz. Może to być także powiązane z licznymi szkoleniami i artykułami na temat tego rodzaju zagrożeń.

Innym sposobem obniżenia zawartości mikotoksyn w mieszankach paszowych, stosowanym w fermach, jest łączenie niewielkich ilości paszy zanieczyszczonej z komponentami dobrej jakości. Postępowanie takie jest jednak bezpieczne tylko wtedy, gdy mieszanka jest skarmiana bezpośrednio po jej wyprodukowaniu. Rozdrobnienie strzępek grzybów, zwiększona temperatura na skutek tarcia w procesie mieszania, a także natlenienie uaktywniają rozwój grzybów. Inokulacja grzybami *Aspergillus ochraceus* (10^5 jtk/g) ziarna pszenicy powodowała, że po tygodniu znajdowało się w próbkach średnio 53 $\mu\text{g/kg}$ OTA [18].

Podsumowanie

W okresie trzech pierwszych miesięcy po żniwach notowano w próbkach najmniejsze stężenia mikotoksyn, co świadczy, że dopiero okres magazynowania pogarsza jakość mikologiczną pasz. W miarę zwiększania się stężeń mikotoksyn w kolejnych sezonach roku, licząc od żniw, liczba kolonii grzybów ulegała redukcji, wskazując na stopniowe wykorzystanie substratu. Występowanie

Tabela 7

Średnie stężenia mikotoksyn ($\bar{x} \pm Sd$) w mieszankach paszowych ($\mu\text{g/kg}$) oraz średnie liczby kolonii grzybów pleśniowych (tys. jtk/g)

Rodzaj mieszanki	n	Średnia	Wartości	
			minimalne	maksymalne
DON				
PR	4	32,7 ±39,2	9,0	90,0
PLK	8	101,5 ±113,0	9,0	351,7
Starter+Grower	8	130,7 ±93,1	22,2	266,7
PT-1+PT-2	5	36,6 ±24,8	9,0	70,7
inne	82	109,0 ±122,6	0,1	690,0
ZEN				
PR	4	1,8 ±2,9	0,1	6,2
PLK	8	9,9 ±16,9	0,1	53,2
Starter+Grower	8	32,6 ±35,2	0,1	84,4
PT-1+PT-2	5	20,2 ±31,9	0,1	76,1
inne	64	15,8 ±20,4	0,1	113,2
OTA				
PR	4	2,5 ±1,8	0,4	8,0
PLK	8	2,8 ±2,9	0,4	3,6
Starter+Grower	8	3,5 ±2,8	0,4	5,8
PT-1+PT-2	5	0,6 ±0,5	0,4	1,6
inne	54	3,1 ±10,9	0,1	79,5
AFT				
PR	8	0,4 ±0,0	0,4	0,4
PLK	8	0,4 ±0,0	0,4	0,4
Starter+Grower	8	0,4 ±0,0	0,4	0,4
PT-1+PT-2	8	0,4 ±0,0	0,4	0,4
inne	8	0,4 ±0,0	0,4	0,4
T-2				
PR	16	46,3 ±33,8	24	135
PLK	16	46,3 ±33,8	24	135
Starter+Grower	16	46,3 ±33,8	24	135
PT-1+PT-2	16	46,3 ±33,8	24	135
inne	16	46,3 ±33,8	24	135
FUM				
PR	14	0,4 ±0,9	0,9	3,6
PLK	14	0,4 ±0,9	0,9	3,6
Starter+Grower	14	0,4 ±0,9	0,9	3,6
PT-1+PT-2	14	0,4 ±0,9	0,9	3,6
inne	14	0,4 ±0,9	0,9	3,6
Kol. grzyb. (tys.jtk/g)				
PR	0	–	–	–
PLK	5	529,9 ±693	9,0	1430,0
Starter+Grower	3	18,9 ±30	9,0	54,5
PT-1+PT-2	5	88,7 ±17	9,0	40,9
inne	57	179,9 ±461	9,0	2000,0

wielu mikotoksyn w jednej próbce należy poważnie brać pod uwagę w przyszłych badaniach określających jakość mikologiczną paszy. Współdziałanie lub działanie addytywne toksyn może powodować, że organizm będzie reagować negatywnie nawet na stężenia dopuszczalne w obecnych normach.

Zróżnicowane warunki klimatyczne w poszczególnych regionach kraju odgrywają dużą rolę ($P < 0,01$) w intensywności tworzenia się mikotoksyn i grzybów.

Wykazano, że małe fermi trzody chlewnej miały gorsze mikologicznie pasze niż duże gospodarstwa i wytwórnie pasz (ZEN, DON). W mieszankach paszowych koncentracja mikotoksyn była kilkakrotnie mniejsza niż w ziarnie zbóż, co może się łączyć ze skierowaniem ziarna – po wykonaniu odpowiednich analiz – na inne cele. Ziarno kukurydzy jest najgorszym komponentem paszowym i głównym źródłem skażenia ZEN. Należałoby ustalić czy jakość ta łączy się z jego importem. Zjawiskiem wymagającym dodatkowych badań jest ustalenie mechanizmu zmniejszania się stężenia ZEN po półrocznym magazynowaniu, sugerujący, że może on po tym okresie ulegać stopniowemu i dość szybkiemu rozpadowi.

Literatura: 1. Aleksandrowicz J., 1982 – Nie ma nieuleczalnie chorych. Iskry, Warszawa. 2. Andrzejewska A., 2010 – Występowanie mykotoksyn w paszach, komponentach paszowych oraz w surowicy krwi wieprzowej w poszczególnych regionach Polski w 2007 roku. Praca mgr, UWM Olsztyn. 3. Bancewicz E., 2007 – Występowanie mykotoksyn w paszach dla trzody chlewnej i próby określenia metod ich detoksykacji. Praca doktorska, UWM Olsztyn. 4. Borkowska-Opacka B., 1980 – Badania nad wykrywaniem i występowaniem grzybów w przemysłowych mieszankach paszowych przeznaczonych dla drobiu. Praca habil., PIW Puławy. 5. Burel C., Tanguy M., Guerre P., Boilletot E., Cariolet R., Queguiner M., Postollec G., Pinton P., Salvat G., Osvald I.P., Fravalto P., 2013 – Toxins 5(4), 841-864. 6. Creppy E.E., Chiarappa P., Baudrimant I., Boracci P., Monkhe S., Carratu M.R., 2004 – Toxicology (8).1.201(1-3), 113-123. 7. Doboszyńska T., Jarczyk A., Postek A., 2004 – Med. Weter. 60, 274-277. 8. Doboszyńska T., Jarczyk A., Rogiewicz A., Jana B., Andronowska A., Postek A., 2005 – Med. Weter. 61, 430-434. 9. Goliński P., Kaptur P., Kostecki M., 1997 – Ocena odmian pszenicy na fuzariozę kłosów i tworzenia moniliforminy pod kątem przygotowania zdrowej żywności. Mat. IV Konf. „Lepsza żywność”, ART Olsztyn, 47-51. 10. Jakimiuk E., Kuciel-Lisiecka G., Zwierzchowski W., Gajęcka M., Obremski K., Zielonka Ł., Skorska-Wyszyńska E., Gajęcki M., 2006 – Med. Weter. 1, 99-102. 11. Jana B., Skwarski R., 1998 – Med. Weter. 54, 667-670. 12. Jarczyk A., 1995 – Med. Weter. 51, 464-466. 13. Jarczyk A., Bancewicz E., Jędryczko R., 2001 – Ann. Anim. Sci. 1, 83-88. 14. Jarczyk A., Bancewicz E., Jędryczko R., 2008 – Anim. Sci. Pap. Rep. 4, 269-276. 15. Jarczyk A., Doboszyńska T., Rogiewicz A., 2006 – Animal Sci., suppl. 1, 34-35. 16. Jarczyk A., Jędrychowski L., Wróblewska B., Jędryczko R., 1998 – Polish J. Food Nutrition Sci. 7/48 (4), 631-643. 17. Kotowski K., Kostecki M., Grabarkiewicz-Szczęśna J., Goliński P., 1993 – Med. Weter. 49(12), 354-356. 18. Lu Ping, Marquardt R.R., Frolich A.A., Milsli T., 1995 – Food Agricult. Immunol. 7, 81-93. 19. Obremski K., Gajęcki M., Zwierzchowski W., Zielonka Ł., Skorska-Wyszyńska E., Gajęcka M., Polak M., Jakimiuk E., Wojciechowski J., 2004 – Med. Weter. 60, 867-873. 20. Pestka J.J., 2007 – Animal Feed Sci. Technol. 137, 283-298. 21. Rogiewicz A., 2002 – Wpływ mykotoksyn, ziół i antybiotyku zawartych w mieszankach na wyniki odchowu prosiąt i warchlaków. Praca dokt., UWM Olsztyn. 22. Scudamore K.A., 2005 – Mycotoxins and their management in the food chain. European Mycotoxin Seminar Series 2005, Alltech, February 7th – March 5th, 73-95. 23. Składanka J., Dohnal V., Doležal P., Ježková A., Zeman L., 2009 – Acta Vet. Brno 78, 353-360. 24. Surai P., Dvorska J., 2005 – Interaction between mycotoxins, immunity and antioxidant systems. European Mycotoxin Seminar Series 2005, Alltech, February 7th – March 5th, 110-113. 25. Truszczyński M., Pejsak Z., 2010 – Med. Weter. 66, 435-437.

Mycotoxins and moulds in grain and pig fodder in Poland

Summary

A total of 643 analyses were performed on grain and fodder from Poland in the years 2010/2011 (July-December 2010 and January-July 2011) to determine the concentrations of mycotoxins, and 111 fodder samples were tested for fungal colonies (CFU). The HPLC technique and the method recommended by the company Vicam were used in the analyses. Concentrations of zearalenone (ZEN), deoxynivalenone (DON), ochratoxin A (OTA), total aflatoxin (AFT), fumonisin (FUM), and toxine T-2 were determined. 37.4% of samples were free of mycotoxins, 4.9% contained one mycotoxin, and 57.7% contained from two to five toxins. The additive and interactive effects of some mycotoxins can have a significant detrimental effect on health and productivity in livestock. In the case of DON and ZEN, 4% and 7% of samples had concentrations exceeding EU standards, which allow 800 and 100 mg/kg, respectively. Moreover, 11.7% of samples contained moulds exceeding the standard limits of 200×10^3 CFU/g. The concentrations of all mycotoxins were low in the first few months after harvest (August-October), and highest – except for ZEN – after 9-12 months of storage. In the case of ZEN the highest concentration was noted in the winter months (on average 64 mg/kg; Sd 223.3). This phenomenon had been observed in earlier years as well. It was surprising that the concentration of ZEN was lower (by 50%) after 6-12 months of grain storage. The maize had the most contaminated grain, with DON and ZEN concentrations of 578 and 81.8 mg/kg, respectively (Sd 654.5 and 129.8). The feed mixtures had significantly lower mycotoxin content than the grain, probably because grain contaminated by fungi or mycotoxins was not purchased or was used for other applications. Climate differences in various regions of Poland significantly affected the concentration of mycotoxins and moulds. The highest concentrations were noted in the north-eastern region of the country (with lower temperatures) and the lowest in the south-western region. Large farms and fodder production plants had higher-quality fodder than small farms.

KEY WORDS: mycotoxins, pig fodder, moulds, seasons, regions, production scale