

## **MIKOTOKSYNY - ZAGROŻENIE XXI WIEKU DLA BYDŁA MLECZNEGO**

*prof. dr hab. Adam Traczykowski  
Katedra Higieny Zwierząt i Mikrobiologii Środowiska,  
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy*

Grzyby są roślinami wszechobecnymi, pełniącymi ogromną rolę w przyrodzie w odzyskiwaniu składników odżywczych z rozkładającej się materii organicznej. Mogą one funkcjonować jako organizmy saprofityczne, a także pasożytnicze wspomagające lub hamujące wzrost i rozwój roślin. Wytwarzają one różne metabolity przeciwdziałające wzrostowi innych konkurencyjnych organizmów, jak bakterie lub inne grzyby. Grzyby toksynotwórcze spotkać można na całym świecie. Istnieje powszechna opinia, że mikroorganizmy zwłaszcza posiadają zdolność neutralizowania mikotoksyn znajdujących się w paszy, dlatego dla bydła można podawać składniki gorszej jakości. Z pewnością nie jest to prawda, bowiem w ostatnich latach nasiliły się u krów mlecznych problemy związane ze stopniem odporności, chorobami metabolicznymi, osłabieniem funkcji rozrodczych i inne. Najczęściej winę za ten stan rzeczy przypisuje się krowom dającym „zbyt dużo mleka”. Czy jest to prawda?

W 10/06 numerze miesięcznika BYDŁO prof. dr hab. Jan Grajewski przedstawił zagrożenie jakie niosą mikotoksyny w paszy dla bydła. Szczególnie ostatnie dwa sezony wegetacyjne dowiodły, że ten problem, zwłaszcza przy sprzyjających warunkach klimatycznych, potęguje rozwój grzybów (mokre, ciepłe lato).

Grzyby dzieli się na polowe i przechowalnicze. Grzyby polowe (pleśnie polowe) atakują rośliny podczas wzrostu na polu i wymagają zwykle wyższej wilgotności (20 – 21 %) i należą tu takie gatunki jak: Fusarium, Alternaria, Cladosporium, Diplodia, Gibberella i Helmitosporium. Grzyby przechowalnicze

rozwijają się na ziarnach lub nasionach podczas ich przechowywania. Należą tu gatunki *Aspergillus* i *Penicillium*.

Główne toksyczne grzyby przedstawia tabela 1.

**Tabela. 1.**

**Główne toksyczne grzyby i mikotoksyny uważane za najbardziej powszechne i potencjalnie najbardziej toksyczne dla krów mlecznych**  
*(Whitlow i Hagler, 2004)*

Rodzaj grzyba	MIKOTOKSYNY
<i>Aspergillus</i>	Aflatoksyna, Ochratoksyna, Sterigmatocystyna, Fumitremorgenzyna, Fumigaklawinezyna, Fumitoksyna, Kwas cyklopiazonowy, Gliotoksyna
<i>Fusarium</i>	Deoksyniwalenol, Zearalenon, toksyna T-2, Fumonizyna, Moniliformina, Niwalenol, Di-acetoksycirpenol, Butenolid, Neozolaniol, Kwas fusarowy, Fusaproliferyna
<i>Penicillium</i>	Ochratoksyna, toksyna PR, Patulina, kwas penicylinowy, Citrinin, Penetrem, Kwas cyklopiazonowy, Roquefortin, Isofumigaclavines A i B, Kwas mykofenolowy
<i>Claviceps</i>	Alkaloidy sporyszu w ziarnie/nasionach drobnonasiennych, sorgo, trawy
<i>Epichloe Neotyphodium</i>	Alkaloidy sporyszu, kostrzewy
<i>Stachybotrys</i>	Stachybotryotoksyny, trichotecenes

Jak wynika z tabeli 2 zagrożenie dla bydła ze strony mikotoksyn jest duże, ponieważ występują one w wartościach toksycznych, zarówno w TMR, jak również kiszonce z kukurydzy i traw.

**Tabela. 2.**

**Zawartość mikotoksyn w dawce kompletnej TMR (kiszonce z kukurydzy (KK) , kiszonce z traw (KT) wg North Caroline State University**

Mikotoksyny/pasza	Aflatoksyna			DON			Fumonizyna		T-2			Zearalenon		
	n	x	%	n	x	%	n	%	n	x	%	n	x	%
TMR	28	48	17.8	44	1379	61.4	12	25.0	36	-	0	43	237	30.2
KK	36	66	11.1	106	1847	75.5	33	39.4	69	60	2.9	93	445	32.3
KT	13	-	0	36	1568	61.1	9	11.1	26	750	3.8	36	283	19.4

**n**- liczba prób

**x** – średnia koncentracja w pozytywnych próbach (ppb)

**%** - % próbek pozytywnych

**Poziom pozytywności próby:**

**Aflatoksyna – 20 ppb**

**DON – 40 ppb**

**Fumonizyna – 5000 ppb**

**T-2 – 50 ppb**

**Zearalenon – 50 ppb**

Zainfekowanie grzybami pasz dla bydła może zachodzić w różnych stadiach produkcji : na polu, podczas transportu oraz zakiszania lub przechowywania i wybierania z silosów. Grzyby produkują mikotoksyny w warunkach stresu środowiskowego, kiedy następują zmiany temperatury, wilgotności, dostępności tlenu lub w przypadku działania substancji agresywnych w stosunku do grzybów.

Praktyki agronomiczne utrzymujące rośliny w dobrym zdrowiu mogą zredukować, ale nie eliminować skażenia roślin mikotoksynami na polu, np. uprawa roślin transgenicznych, odpornych na owady, z genem kodującym białko (Bt), która wykazuje niższe skażenie fumonizynami. Powinno się wprowadzać mieszańce bardziej odporne na pleśnie, tam gdzie ten problem szczególnie się nasila.

Podczas uprawy głównym sposobem ograniczenia rozwoju pleśni jest ograniczenie stresu roślin podczas ich wzrostu np. wilgotność w środkowym i / lub końcowym okresie wegetacji występujące po suchym okresie, a także wysoka wilgotność w sezonie wczesnym i podczas zbiorów.

Zapobieganie, a także niszczenie mikotoksyn w paszach i materiałach paszowych nie jest łatwe. Mało skutecznym sposobem jest monitoring badań skażenia ziarna przed zbiorami. Również próby wyhodowania odmian zbóż odpornych na porażenie pleśniami nie przyniosły oczekiwanego efektu. W celu efektywnego zapobiegania należy prowadzić zabiegi prewencyjne, zaczynając od pola, a kończąc na gotowej paszy. Obejmują one wzrost roślin, zbiór, przechowywanie, obrót, transport i przetwarzanie na pasze. Nie jest to łatwe, bowiem na wzrost grzybów mają wpływ czynniki niezależne od człowieka, takie jak warunki pogodowe oraz inwazje owadów. Liczne badania dowodzą, że zabiegi agronomiczne stosowane w ochronie roślin mogą redukować, ale nie eliminować skażenia mikotoksynami. Typowym przykładem okazały się sezony wegetacyjne w latach 2005 i 2006, kiedy notowano wysoką wilgotność w końcowym okresie wegetacji następującą po suchym okresie (lipiec). Należy pamiętać, że większość mikotoksyn jest odporna w odniesieniu do wpływu czynników środowiska naturalnego.

Obiecującą strategię ograniczania rozwoju mikotoksyn jest inokulacja liniami grzybów tych samych gatunków lub grup taksonomicznych grzybów nieprodukujących mikotoksyn, jako upraw konkurencyjnych dla grzybów toksynotwórczych (Cleveland i wsp. 2003).

W ostatnich latach ośrodki naukowe oraz firmy paszowe poszukują sposobów mogących ograniczać, a nawet eliminować negatywne skutki działania mikotoksyn w paszach. Metody te można podzielić na trzy rodzaje:

1. Metody fizyczne: oddzielenie ziaren zanieczyszczonych od czystych, zmywanie, obłuskiwanie, polerowanie oraz traktowanie gorącym powietrzem.
2. Metody chemiczne: działanie na zboża związkami chemicznymi, takimi jak: amoniak, chlor, chlorowódór, dwutlenek siarki, wodorotlenek amonu, ozon i inne.

3. Metody biologiczne: wykorzystujące wiązanie mikotoksyn przez bardziej lub mniej aktywne rodzaje glinokrzemianów (glinek), polimery, aktywny węgiel, probiotyki, prebiotyki, enzymy i inne. Absorbenty mikotoksyn powinny działać szybko, a ponadto mieć strukturę, aby działać na każdą toksyną w szerokim spektrum pH.

Spośród metod chemicznych stosowanych w niszczeniu grzybów toksynotwórczych do najważniejszych należą kwasy organiczne, a szczególnie kwas propionowy. Skuteczność działania tych kwasów jest uzależniona przede wszystkim od wilgotności ziarna (Krabbe i wsp. 1994).

Kwas propionowy jest najbardziej skutecznym dla zapobiegania pleśnieniu. Występuje on w dwóch formach: zdysocjowanej ( $\text{CH}_3 \text{CH}_2 \text{COO}^-$ ) i niezdisocjowanej ( $\text{CH}_3 \text{CH}_2 \text{COOH}$ ). Forma niezdisocjowana jest silnie korozyjną, żrącą i lotną substancją o gryzącej woni ( w postaci zdysocjowanej odwrotnie). Jednak niezdisocjowana forma bardziej efektywnie niszczy grzyby i bakterie, ponieważ łączy się ze ścianą komórkową powodując wydostawanie się wody na zewnątrz komórki. Odczyn (pH) cytoplazmy jest obojętny (ok. 7,0) i kiedy ulega ona rozkładowi, cząsteczki kwasu dysocjują tworząc sole, w postaci których pewna pula kwasu pozostaje w żywności. Jeżeli stosowana jest wyłącznie forma niezdisocjowana, wówczas duża jego ilość ulega wyparowaniu. Kwas ten po zastosowaniu, wchodzi w reakcje z kationami, tworząc propioniany Ca, Mg i Na, a część wyparowuje do górnych części zbiorników i w reakcji z wodą powoduje korozję (Coelho, 1994). Z tych powodów bardziej przydatną formą wydaje się kwas propionowy zdysocjowany, stabilny i dostępny wówczas, kiedy będzie następował silniejszy rozwój pleśni.

Jeżeli kwas niezdisocjowany zacznie działać przeciwko pleśniom i jego zasoby będą się wyczerpywać, przesunięcie kwasu z fazy zdysocjowanej do niezdisocjowanej będzie zależało od pH otoczenia. W tej sytuacji zaleca się inhibitory pleśni zawierające w 15% niezdisocjowanego kwasu propionowego

(aby natychmiast wstrzymać rozwój pleśni), po czym kwas powinien pozostanie w odpowiedniej proporcji cząsteczek zdysocjowanych do niezdisocjowanych.

Bardzo istotnym zagadnieniem jest adsorpcja powstałych mikotoksyn.

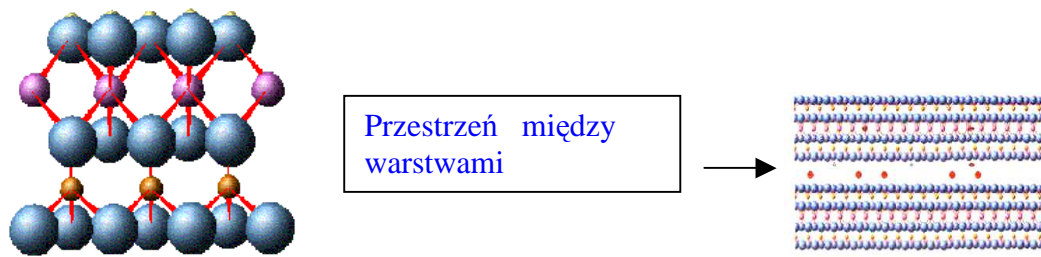
Stosowanie glinokrzemianów (glinek) znane było od wielu lat.

Każda glinka należy do minerałów ilastych i jest zbudowana z równoległych 2 – 3 warstw, które zawierają dużą ilość atomów wodoru, glinu, magnezu i żelaza. Od tego zależy w jakim stopniu absorbowane są mikotoksyny.

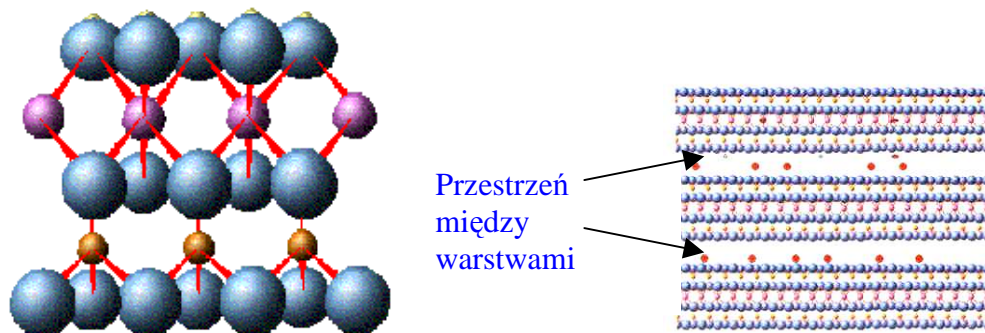
Różne typy substancji wiążących mikotoksyny, które są dostępne na rynku, dzieli się na 4 podstawowe grupy: bentonity, zeolity, krzemiany glinu i produkty mieszane. Pod względem chemicznym są one zbliżone w swoim składzie, natomiast znacznie różnią się morfologią, czystością i zdolnością tworzenia wiązań chemicznych. Glinki mogą mieć ładunek obojętny, mając jednakową liczbę ładunków dodatnich i ujemnych. Możliwe jest także zastąpienie glinu innymi pierwiastkami dostępnymi w ziemi. Gdy w warstwach glinki następuje substytucja jonowa, lub całe warstwy są zmienione, wówczas powstają różne rodzaje glinki. Lepkość warstw jakie tworzy glinka decyduje o jej klasyfikacji do określonej grupy, podgrupy lub gatunku.

Najcieńsza warstwa występuje w typie kaolinitu, który ma strukturę 1:1, co oznacza, że zawiera jedną warstwę oktaedrową i jedną warstwę tetraedrową. Są one wtłoczone jedna w drugą (jak warstwy kanapki) i posiadają gęstość 7A (1A = 1/10 nm) tworząc powierzchnię około 20 – 40 m<sup>2</sup>/g glinki. Wiązania wodorowe, które tworzą się między warstwami są bardzo silne i uniemożliwiają absorpcję mikotoksyn. Ponadto wykazują słabą reaktywność chemiczną (ryc. 1.).

### Ryc. 1. Struktura kaolinitu.



Inną grupą glinok są MONTMORYLONITY mające strukturę 2:1. Składają się one z 3 warstw: jednej oktaedralnej i dwu tetraedralnych, o lepkości 10A. Ten typ glinki jest bardziej labilny niż w strukturze 1:1, ponieważ między warstwami nie tworzą się wiązania wodorowe (ryc. 2).

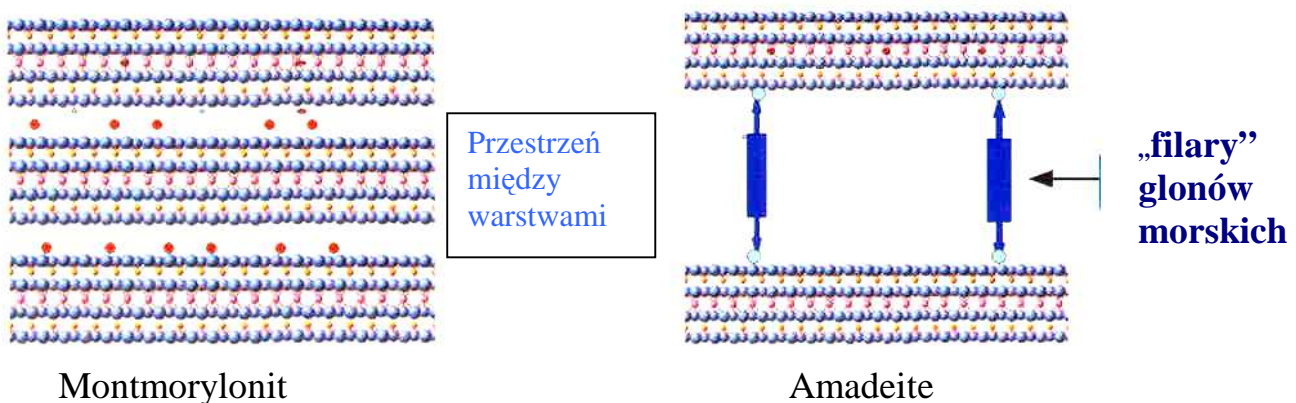


### Ryc. 2. Struktura typowego montmorylonitu

Rozbudowana powierzchnia chłonna wynosi ponad 700m<sup>2</sup>/ gram glinki (jest to największa odkryta w naturze powierzchnia !). Glinki te posiadają wysoki stopień uwodnienia i pęcznienia, a tym samym wysoką, w stosunku do mikotoksyn aktywność. Większość glinok MONTMORYLONITU wykazuje oktaedryczną warstwę (atom glinu jest połączony z 6 atomami wodoru), w której często następuje zastąpienie glinu przez żelazo (Fe<sup>+2</sup> lub Fe<sup>+3</sup>) lub magnez (Mg<sup>+2</sup>). Głównymi kationami kompensującymi są jony Na, K, Mg i Ca, działające jak magnes dla mikotoksyn. Liczne badania mające na celu sprawdzenie absorpcji mikotoksyn przez różnego rodzaju glinki wykazały, że istnieją mykotoksyny o szczególnie dużych cząsteczkach, które nie mogą wchodzić w przestrzeń międzywarstwową glinki i dlatego nie mogą być

absorbowane. W tym przypadku z pomocą przyszła NANOTECHNOLOGIA umożliwiająca powiększenie przestrzeni międzywarstwowych. Naukowcy firmy OLMIX z Francji zastosowali naturalne, wyekstrahowane z wodorostów morskich składniki (zielona sałata) dla modyfikacji struktury MONTMORYLONITU. Wodorosty, będące chemicznie polisacharydami, działają jak filary (podpory) między warstwami, tworząc 10 – krotny wzrost przestrzeni międzywarstwowej i znacznie szerszy zakres zdolności glinki do absorpcji mikotoksyn. Ta nowoutworzona struktura została nazwana AMADEITE (ryc. 3.)

**Ryc. 3. Porównanie struktury Montmorylonitu i Amadeit – u**



Proste oznaczenie mikotoksyny w paszy nie jest wystarczające dla ustalenia rzeczywistego wiązania lub inaktywacji, ponieważ nie jest jasne w jaki sposób reakcje w organizmie zwierzęcym mogą wpływać na ich wiązanie . Dla przykładu, jeżeli toksyna jest związana w paszy, a później uwolniona w organizmie zwierzęcia, wówczas binder wiążący nie jest efektywny. Podobnie, jeżeli preparat wiąże mikotoksynę tylko w organizmie zwierzęcia , a nie w paszy, wówczas efektywność jego działania jest trudne do sprawdzenia.

Innym rodzajem biotechnologii wykorzystywanej w zwalczaniu mikotoksyn jest kompozycja różnych składników mogących powodować degradację lub transformację mikotoksyn, a w konsekwencji ich neutralizację. W ich skład wchodzi następujące substancje:

- glinokrzemian wielowarstwowy z organicznymi molekułami zwiększającymi przestrzeń między warstwami
- biopolimery chityny – CHITOSAN
- enzymy
- naturalne ekstrakty
- witaminy

Biopolimerem jest specyficzny rodzaj chitosanu, produktu otrzymywanego z chityny pancerzy krabów i krewetek na drodze reakcji chemicznej zwanej deacetylacją. W wyniku reakcji uwalnia się grupa aminowa ( $\text{NH}_2$ ) i nadaje chitosanowi właściwości kationowe, które są szczególnie interesujące w środowisku kwaśnym..

Aktualne doświadczenia wykazują, że pewne enzymy mogą przyczynić się do modyfikacji mikotoksyn w znacznie mniej szkodliwe związki. Wyróżnia się dwa różne sposoby działania enzymów do mikotoksyn. W pierwszym przypadku enzymy dzielą toksynę na dwie części - **degradacja**, natomiast w drugim przypadku –**transformacji**, enzym modyfikuje strukturę chemiczną mikotoksyny. Jest również istotne, aby związki powstałe przez degradację lub transformację nie były toksyczne dla organizmu.

Plusem tego typu absorbentów jest zastosowanie w ich składzie naturalnych ekstraktów o właściwościach osłaniających wątrobę oraz witaminę C zapobiegającą stresowi pojawiającemu się w zatruciach mikotoksynami.

Badania omawianych preparatów wykazały bardzo wysoką skuteczność w stosunku do mikotoksyn. Należy dodać, że preparaty powstałe w procesie nanotechnologii charakteryzują się małą aktywnością w stosunku do witamin, makro – i mikroelementów oraz innych substancji aktywnych w paszy przeznaczonej dla zwierząt.

Rozwój nanotechnologii jest niewątpliwie trzecią rewolucją przemysłową. Materiały wykorzystane w tym procesie pochodzą całkowicie z naturalnego

środowiska przyrodniczego i dzięki najnowocześniejszej technologii stanowią szansę na wiązanie toksyn powstających w środowisku i ich eliminację.