

Agraarteadus  
1 \* XXV \* 2014 : 23–29



Journal of Agricultural Science  
1 \* XXV \* 2014 : 23–29

## ROHU- JA MAISISILODE MÜKOTOKSIINIDEGA SAASTATUS EESTIS

### MYCOTOXINS CONTAMINATION IN GRASS AND MAIZE SILAGE IN ESTONIA

Helgi Kaldmäe, Andres Olt, Ragnar Leming, Meelis Ots

Eesti Maaülikool, veterinaarmeditsiini loomakasvatuse instituut, F.R. Kreutzwaldi 46, 51006 Tartu

Saabunud: 19.05.2014  
Received:  
Aktsepteeritud: 18.06.2014  
Accepted:  
Avaldatud veebis: 20.06.2014  
Published online:

Vastutav autor: Helgi  
Corresponding author: Kaldmäe  
e-mail: helgi.kaldmae@emu.ee

**Keywords:** grass silage, maize silage, deoxynivalenol, zearalenone, mycotoxins

Link: [http://agrt.emu.ee/pdf/2014\\_1\\_kaldmae.pdf](http://agrt.emu.ee/pdf/2014_1_kaldmae.pdf)

**ABSTRACT.** The silage quality estimated by chemical composition and fermentation parameters, but awareness of the composition of mycotoxins is of great importance. The aim of this study was to determine the concentration of the mycotoxins (deoxynivalenol (DON) and zearalenon (ZEA)) in silage produced on Estonian farms (n=56), in the years 2011, 2012 and 2013. A total of 596 grass, 55 maize and 10 whole-crop silage samples were collected for analyses. The silages were found to contain mycotoxins. In grass silage, 92% of samples were found to be positive for DON and 100% for ZEA, while in maize silage samples 95.7% were positive for DON and 100% for ZEA in 2013. The mean concentration of DON of grass silage was 209 ppb while the concentration of ZEA was 329 ppb. In maize silage the mean concentrations of DON and ZEA were 227 ppb and 292 ppb respectively. ZEA concentration in first-cut grass silage was a mean of 257.4 ppb, the second cut 245.0 ppb and the third cut 224.4 ppb, while the figures for DON concentrations were 214.7 ppb, 190.8 ppb and 166.3 ppb respectively. Silage with a dry matter content of <25% contained fewer of the analysed mycotoxins compared to silages with dry matters of 35–45%. During the growing period grass forage was contaminated with mycotoxins, most of all by DON and ZEA. Mycotoxin concentrations increased in the field before the forage was cut for silage making. The ZEA and DON concentrations increased with increased growth time of the forage. The maximum levels of mycotoxin contents of the grass were recorded at the time of harvest. DON and ZEA concentrations in the summer period depended on the grass species and the weather conditions.

© 2014 Akadeemiline Põllumajanduse Selts. Kõik õigused kaitstud. 2014 Estonian Academic Agricultural Society. All rights reserved.

#### Sissejuhatus

Silo on mäletsejaliste ratsiooni väga tähtis komponent, eriti piimatootmisfarmides kogu maailmas. Eestis toodetakse silo peamiselt kõrrelistest ja liblikõielistest heintaimedest (92%) ja veidi maisivilisest (8%). Silo moodustab poole kuivaine koostisest lüpsilehmade ratsioonis. Seega mõjutab silo toiteväärtus ja kvaliteet nii toodangut, loomade tervist, kui sigivust. Tava-päraselt hinnatakse silo toiteväärtust keemilise koostise ja fermentatsiooni parameetrite alusel, kuid silos võivad esineda ka mükotoksiinid, mis halvendavad selle kvaliteeti.

Mükotoksiinid on hallitusseente, peamiselt *Aspergillus*, *Penicillium* ja *Fusarium* tüvede poolt produtseeritud

sekundaarsed metaboliidid (Yiannicouris, Jouany, 2002). Mükotoksiinid mõjuvad negatiivselt koduloomadele ja -lindudele, nõrgestades nende immuunsüsteemi ja hormonaalseid funktsioone, vähendavad söömust ja toodangut ning ohustavad tervist, põhjustades, olenevalt kogustest, mitmesuguseid, nii subkliinilisi kui kliinilisi haigusi (Jouany, Diaz, 2005; Whitlow, Hagler, 2005; Fink-Gremmels, 2006).

Hallitusseente areng ja sööda mükotoksiinidega saastatuse ulatus sõltub mitmesugustest keskkonnamuutustest silo materjalis (temperatuur, niiskusesisaldus, vee aktiivsus, hapnikusisaldus, pH) ning silo materjali liigist või sordist (Nelson, 1993; Queiroz *et al.*, 2011). Siia lisanduvad veel taimede stress ja

kahjustused, mis on tingitud kas ekstreemsest ilmastikust (rahe, põud) või taimehaigustest (Queiroz *et al.*, 2010).

Teatakse üle 400 mükotoksiini, kuigi laiemalt on uuritud nendest väheseid. Paraskliimavõttes valmistatud silodes esineb kõige sagedamini deoksinivalenooli (DON), zearalenooni (ZEA), fumonosiini (FUM) ja rokvefortiini C (ROC). Aflatoksiinid (AFLA) arenevad vaid keskkonnaningimustes, kus on soe ja niiske (Whitlow, Hagler, 2005).

Mükotoksiinid söödas (sh heinas ja silos) on mitmeti ohtlikud. Esiteks mõjutavad nad loomade tervist ja vähendavad toodangut. Teiseks saastavad nad loomadelt saadavaid toidutooraineid. Enamus söötades esinevad mükotoksiinid, nagu deoksinivalenool, zearalenoon, fumonosiinid, ohratoksiin A, siiski toidusse (piim, liha) üle ei kandu. Neid ei ole leitud piimast ja piimasaadustest, välja arvatud aflatoksiin (EFSA, 2004; Driehuis *et al.*, 2008).

Silo võib mükotoksiinidega saastuda taimse materjali kaudu juba põllul enne koristust, silo tegemisel, sileerimisel materjali halva tihendamise tõttu, hoidla avamisel ning silo söötmisel (Nedělník, Moravcova, 2006; Aragon *et al.*, 2011; Cheli *et al.*, 2013). Mükotoksiinid võivad tekkida taimede vegetatsiooni ajal enne koristust ja hoiustamist. Patogeenseid mikroorganisme, valdavalt *Fusariumi* esindajaid on leitud kõikidelt taimeosadelt, kuid infektsioon on sagedasem surnud kudedes. Nedělníku ja Muravcova (2006) andmetel suurenes põllul heintaimede mükotoksiinide tase just viimasel nädalal enne siloks koristust. Maisisilo DON- ja ZEA-sisaldus oli suure varieeruvusega 0,005–13,75 mg kg<sup>-1</sup>, mida mõjutas taime erinevate osiste hulk. Näiteks sisaldas maisitõlvik vähem ZEA-d kui varred ja lehed.

Kaldmäe *et al.* (2011) katsed näitasid, et silos, mis pärast niitmist sileeriti ilma närvutamiseta, oli vähem mükotoksiine võrreldes närvutatud materjalist valmistatud siloga. Kui jalalt niidetud silo sisaldas aflatoksiini 0,8 ppb, zearalenooni 97,2 ppb, deoksinivalenooli 317,7 ppb, T-2 toksiooni 1,6 ppb ja fumonosiini 30,8 ppb, siis 24 tundi närvutatud silo vastavalt 3,1 ppb, 171,1 ppb, 355,5 ppb, 22,7 ppb ja 89,1 ppb (Kaldmäe *et al.*, 2011). Samuti näitasid tulemused, et silokindlustuslisandi kasutamine sileerimisel ei vähendanud mükotoksiinide sisaldust silos.

Soodsad sileerimise tingimused, korralik fermentatsioon ja silo hermeetilisus vähendavad hallitusseente kasvu ja mükotoksiinidega saastatust, sest nende arenguks puudub vajalik hapniku kogus (Johansson *et al.*, 2005; Mansfield, Kuldau, 2007).

Uuringu eesmärgiks oli selgitada mükotoksiinide esinemist Eestis valmistatud silodes, analüüsida erinevate farmide silohoidlast võetud proovide mükotoksiinide sisaldust. Lisaks, selgitada materjali saastatust põllul, enne koristamist, ning milline on saastatus taimse materjali käitlemisel ja sileerimisel.

## Metoodika

Kolmel aastal (2011–2013) uuriti Eesti farmides (n=56) valmistatud silode mükotoksiinide (ZEA ja DON) sisaldust. Kokku analüüsiti 596 rohu-, 55 maisi- ja 10 vilisesiloproovi. Mükotoksiinide sisaldust analüüsiti I, II ja III niite rohusilodest, kokku 185 proovis.

Põllul esinevate mükotoksiinide olemasolu uurimiseks valiti kõrreliste-, esimese ja teise aasta põldheina- ning lutsernipõld. Proove koguti kahel aastal (2012–2013) heintaimede vegetatsiooniperioodil üks kord kuus.

Ilmastikuandmed registreeriti kohalikust ilmavaatlusjaamast Tartumaal (tabel 1), mille lähedal uuritud põllud asusid. Siloks koristati kolm niidet: juunis, augustis ja septembris. Proove võeti ka põllul 24 tundi närvutatud, silohoidlasse viidud massist ja kolm kuud valminud silost.

**Tabel 1.** Keskmise õhutemperatuur ja niiskus rohu kasvu- perioodil 2012. ja 2013. aastal

**Table 1.** Average temperature and humidity at the years 2012 and 2013 on period of growth of grass

Kuu Month	Keskmise temperatuur Mean temperature °C		Niiskus Humidity %	
	2012	2013	2012	2013
Mai/May	12.3	15.0	66.0	60.4
Juuni/June	14.4	18.7	75.3	57.2
Juuli/July	18.7	18.2	79.5	56.6
August/August	15.5	17.5	86.3	57.6
September/September	12.4	11.5	89.5	66.5

Eelkuivatatud (60°C juures) ja kuni 1 mm jämeduseks jahvatatud siloproovidest määrati kuivainesisaldus termostaadis 130°C juures konstantse massini (AOAC, 2005). Mükotoksiinid ZEA ja DON määrati ELISA meetodil, kasutades selleks Ridasgreen® FAST komplekte. Analüüsid viidi läbi Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi söötmise osakonna laboratooriumis.

Mükotoksiinide sisalduse ühikule ppb vastab µg kg<sup>-1</sup>.

Andmed analüüsiti, kasutades tarkvara MS Excel 2010, keskmiste olulisust hinnati t-testiga olulisuse nivool 0,05. Kuivaine klassi mõju selgitamiseks erinevate mükotoksiinide sisaldusele kasutati SAS programmi üldist lineaarset mudelit alljärgneval kujul:

$$Y_{ij} = m + KA_i + e_{ij},$$

- kus  $Y_i$  – uuritav tunnus,  
 $m$  – keskmine,  
 $KA_i$  – kuivaine klassi mõju,  
 $e_{ij}$  – juhuslik viga.

## Tulemused ja arutelu

Analüüsides tulemused näitasid, et peaaegu kõik Eesti farmides valmistatud silod sisaldasid teatud määral mükotoksiini ZEA ja DON. ZEA-sisaldusega rohusiloproove esines erineval aastal 99,3–100% ja DON-sisaldusega 92,0–99,6% ning maisisilodes vastavalt 100% ja 95,7–100% (tabel 2).

**Tabel 2.** Mükotoksiinide sisaldus rohu- ja maisisilodes Eestis aastatel 2011–2013  
**Table 2.** Mycotoxins content in grass and maize silages in Estonia in 2011–2013

Silo tüüp / Type of silage	Näitajad/Items	ZEA			DON		
Aasta/Year		2011	2012	2013	2011	2012	2013
Rohusilo / Grass silage	Proovide arv No of samples	148	223	225	148	223	225
	Positiivsete proovide % % positive samples	99,3	100	100	98	99,6	92
	Max sisaldus, $\mu\text{g kg}^{-1}$ Max content level, $\mu\text{g kg}^{-1}$	1817	625	689	1813	1402	1326
	Keskmine sisaldus, $\mu\text{g kg}^{-1}$ Average content, $\mu\text{g kg}^{-1}$	415,6	263,5	307,6	217,7	230,6	178,5
	Standard viga Standard error	8,3	7,4	9,5	16,2	15,7	14,4
	Maisi silo / Maize silage	Proovide arv No of samples	8	22	25	8	22
Positiivsete proovide % % positive samples		100	100	100	100	100	95,7
Max sisaldus, $\mu\text{g kg}^{-1}$ Max content level, $\mu\text{g kg}^{-1}$		674	639	490	522	655	487
Keskmine sisaldus, $\mu\text{g kg}^{-1}$ Average content, $\mu\text{g kg}^{-1}$		330,0	211,0	332,8	277,3	189,6	222,9
Standard viga Standard error		40,8	41,2	23,6	39,2	54,2	41,6

Ka teiste teadlaste uurimisandmed näitasid, et mükotoksiinid esinevad nii maisi kui rohusilodes. Suurbritannias 2007. aastal sisaldasid kõik uuritud maisisiloproovid keskmiselt DON 807  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ja ZEA 168  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Aragon *et al.*, 2011). Hollandis uuritud 16 farmi söödad olid enamasti saastatud DON-ga (81%) ja ZEA-ga (46%), kusjuures maisisilo sisaldas DON-i 933  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ja ZEA-d 146  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Driehuis *et al.*, 2008). Borutova ja Naehreri (2012) määrasid Euroopa regioonis kasutatavate söötade mükotoksiinide sisaldust 1166 proovis 12 kuu jooksul. Tulemused näitasid, et kõige enam esines DON (59% positiivseid proove) ja FUM (50%) mükotoksiine. Tuleb märkida, et Põhja-Euroopast pärit proovides oli FUM-i tase ainult 236  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , Lõuna-Euroopas aga 7260  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Põhja-Euroopast pärit söödaproovid sisaldasid kõige enam DON-i, keskmiselt 665  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . DON-positiivseid siloproove oli 48% ja ZEA-l 36%, keskmiste näitajatega vastavalt 462  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ja 139  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Eesti rohusilode kolme aasta keskmine DON-sisaldus oli 209  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ja ZEN-sisaldus 329  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , maisisilodel aga vastavalt 227  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ja 292  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , kusjuures aastate lõikes esinesid väikesed erinevused, mis ei olnud statistiliselt olulised.

Tuleb märkida, et mükotoksiinide ohutuks tasemeks saab pidada sööda koostist, kus neid ei esine. Siiski,

väikeste sisalduste juures nad ei ohusta iga kord looma tervist ega produktiivsust, kuid see sõltub väga paljudest teguritest ning seepärast antakse riski tasemeks erinevaid numbrilisi väärtusi (Driehuis *et al.*, 2008; Aragon *et al.*, 2011). Peab arvestama mükotoksiinide sünergismiga ja sellega, et ratsioon koosneb mitmest erinevast söödast.

Kui lähtuda, et silo ZEA-sisaldusega alla 100 ppb on madal tase ning ei kujuta tavaliselt ohtu, siis 100–250 ppb tuleb lugeda keskmiseks tasemeks ning rohkem kui 250 ppb juba kõrgeks tasemeks. DON-sisaldust vähem kui 500 ppb loetakse madalaks, 500–2000 ppb keskmiseks ning üle 2000 ppb juba kõrgeks ja väga ohtlikuks tasemeks (Whitlow *et al.*, 1998). Eestis valmistatud silod sisaldasid ZEA (>250 ppb) 48,9–63,5% ja DON (>500 ppb) 6,9–8,4% uuritud proovidest (tabel 3). Tuleb märkida, et enim probleeme tekitab silodes esinev suhteliselt suur zearalenooni sisaldus. Zearalenooni produtseerivad *Fusarium graminearum* ja mõned teised *Fusariumi* perekonna seened. ZEA toksikoosi korral tekivad sigimisprobleemid. Mäletsejalistel tekivad vaginiidid, abordid, viljatuse. Mitte-tiinetel mullikatel suureneb udar, kui nad tarbisid sööta, mis oli saastatud mükotoksiinidega (Jouany, Diaz, 2005; Bryden, 2012).

**Tabel 3.** Positiivsete rohusiloproovide iseloomustus 2011–2013 aastal  
**Table 3.** Positive mycotoxins contamination of silage in 2011–2013

Mükotoksiini sisaldus, ppb Mycotoxin content, ppb	2011		2012		2013	
	n/%	$\bar{x}$	n/%	$\bar{x}$	n/%	$\bar{x}$
<b>ZEA</b>						
Madal tase / Low range, <100	21/14,3	75,0	16/7,2	63,8	15/6,7	59,1
Keskmine tase / Medium range, 100–250	44/29,9	183,7	98/43,9	176,9	67/29,8	181,3
Kõrge tase / High range, >250	82/55,8	513,4	109/48,9	370,8	143/63,5	394,4
<b>DON</b>						
Madal tase / Low range, <500	135/93,1	109,9	203/92	189,0	188/84,0	138,8
Keskmine tase / Medium range, 500–2000	10/6,9	890,2	19/8	675,9	19/8,4	740,6
Kõrge tase / High range, >2000	0	–	0	–	–	0

Kõige rohkem mükotoksiine sisaldasid vilisesilod, veidi vähem rohusilod (tabel 4). Vaadeldes põldheinasilode I, II ja III niidet eraldi, saadi tulemuseks, et nende keskmine kuivainesisaldus erines oluliselt ( $P < 0,01$ ) (tabel 4). Erinevate niidete rohusilode mükotoksiinide sisalduses statistiliselt olulisi erinevusi ei esinenud. Ka

Leedus tehtud uurimused näitasid, et kõige enam oli saastunud mükotoksiinidega vilisesilo, vastavalt DON 471,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ja ZEA 397,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Baliukoniene *et al.*, 2012).

**Tabel 4.** Vilise- ja rohusilode mükotoksiinide sisaldus erinevates niidetes  
**Table 4.** Concentrations of mycotoxins in silages different botanical composition and cuts

Mükotoksiin <i>Mycotoxin</i>	Proovide arv <i>No of samples</i>	Keskmine kuivainesisaldus, % <i>Mean concentration of dry matter, %</i>	Keskmine <i>Mean</i>	Min-Max
<i>Maisisilo / Maize silage</i>				
ZEA, ppb	40	27,1	292,5±22,6	16–531
DON, ppb	40	27,1	221,3±32,6	7–655
<i>Vilisesilo / Whole-crop cereals</i>				
ZEA, ppb	10	34,9	428,9±48,7	238–625
DON, ppb	10	34,9	261,9±66,8	0–560
<i>Kõrreliste-liblikõieliste silo I niide / Grass-legumes silage I cut</i>				
ZEA, ppb	67	36,0	257,4±17,8	9–798
DON, ppb	67	36,0	214,7±20,6	0–797
<i>Kõrreliste-liblikõieliste silo II niide / Grass-legumes silage II cut</i>				
ZEA, ppb	68	30,8	245,0±17,0	31–674
DON, ppb	68	30,8	190,8±17,4	7–553
<i>Kõrreliste-liblikõieliste silo III niide / Grass-legumes silage III cut</i>				
ZEA, ppb	53	22,4	222,4±14,7	40–540
DON, ppb	53	22,4	166,3±20,1	12–610

Kuivaine / *Dry matter* I/II niide/cut  $P < 0,01$ ; I/III  $P < 0,001$ ; II/III  $P < 0,001$

Erinevate kuivainesisaldusega silode (450 proovi) ZEA- ja DON-sisalduse võrdlemisel selgus, et rohusilo kuivainesisalduse ja mükotoksiinide sisalduse vahel on tugev seos ( $P < 0,01$ ; tabel 5). Samuti selgus, et silodes kuivainesisaldusega alla 25% esines kõige vähem mükotoksiine. Kõige enam mükotoksiine esines silodes kuivainesisaldusega 35–45%, ZEA 332,0 ppb ja DON 214,4 ppb.

Kuivainesisaldusega <25% silo algmaterjali on vähe närvutatud ja seda on lihtsam tihendada. Suurema kuivainesisalduse juures tuleb hoolikamalt materjali tallata parema tiheduse saavutamiseks. Silo kuivaine minimaalseks tiheduseks soovitatatakse 240 kg KA  $\text{m}^{-3}$  (Holmes, Muck, 2004; Wang, 2012), mis vähendab hapnikusisaldust materjalis, kuna mikrofloora areng silos on esmalt hapniku kättesaadavusest (Nedělník, Moravcova, 2006).

**Tabel 5.** Mükotoksiinide sisalduse sõltuvus silo kuivainesisaldusest  
**Table 5.** Concentration of mycotoxins in silage of dependence on dry matter

Näitajad <i>Items</i>	Kuivaine / <i>Dry matter</i>				SEM	P-väärtus <i>P-value</i>
	<25%	25–35%	35–45%	>45%		
Proovide arv <i>No of samples</i>	117	182	86	61		
ZEA, ppb $\bar{x}$	224,6 <sup>abc</sup>	307,7 <sup>a</sup>	332,0 <sup>b</sup>	289,3 <sup>c</sup>	17,8	<0,001
DON, ppb $\bar{x}$	151,4 <sup>ab</sup>	211,7 <sup>a</sup>	214,4 <sup>b</sup>	196,7	24,7	0,043

<sup>abc</sup> erinevate indeksitiga keskmised samas reas erinevad statistiliselt oluliselt ( $P < 0,05$ )

<sup>abc</sup> mean values with different letters in same row differ significantly ( $P < 0,05$ )

Tabelis 6 toodud tootmiskatse andmed näitavad, millal mükotoksiinid silosse tekivad. Närvutamisel mükotoksiinide sisaldus kahekordistus, mida suurendas omakorda ka rohumassi käitlemine, kaarutamine, koristamine, transportimine silohoidlasse ja tihendamine. Sileerimisel aga suurenes mükotoksiinide sisaldus mitmekordselt, timuti-punaseristiku silos DON-sisaldus 1,8 ja ZEA-l 3,7 korda ning lutsernisilos vastavalt 1,5 ja 5,6 korda. Tulemused viitavad sellele, et silo-materjali kas tihendati vähe või ei olnud materjal hoidlas hermeetiliselt ja korralikult kaetud, sest silo-materjalis leidis piisavalt hapnikku hallitusseente arenemiseks ja mükotoksiinide tekkimiseks.

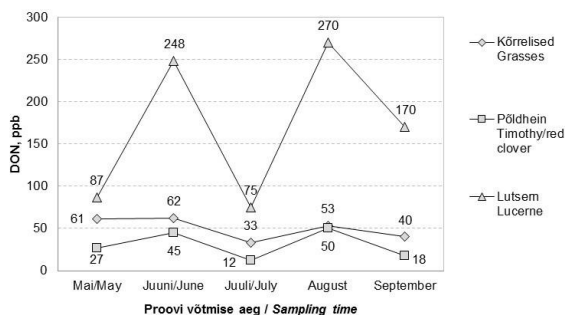
**Tabel 6.** Mükotoksiinide sisalduse muutus taimsest materjalist siloni

**Table 6.** Dynamics of concentration of mycotoxins during material on field and after silo opening

Materjal/Material	ZEA, ppb	DON, ppb
<i>Timuti-punase ristiku rohi / Grass of timothy-red clover</i>		
Põllul enne niitmist / <i>On the field before cut</i>	24,3	21,2
24 tundi närvutatud / <i>Wilted for 24 hours</i>	26,4	42,9
Rohi hoidlas / <i>Grass in the silo</i>	48,7	82,1
Silo (3 kuud) / <i>Silage (three month)</i>	180,2	155,1
<i>Lutserni rohi / Grass of lucerne</i>		
Põllul enne niitmist / <i>On the field before cut</i>	17,6	140,0
48 tundi närvutatud / <i>Wilted for 48 hours</i>	32,6	247,8
Silo (3 kuud) / <i>Silage (three month)</i>	183,7	377,0

Nii Pahlow *et al.* (2003) kui Gonzales-Pereyra *et al.* (2008) märgivad, et hallitusseened kasvavad ka madala hapnikusisalduse juures. Silomaterjali käitlemisel (vähene tihendamine ja hermeetilisus) luuakse tihti aeroobsed tingimused, mis kahjustavad fermentatsiooni ja soodustavad seente arengut. Silohoidla kiire täitmine, korralik tihendamine ja hermeetilisuse tagamine pärsivad mükotoksiinide teket (Driehuis, 2012).

Erinevate heintaimede proovide mükotoksiinide sisalduse uurimine näitas, et DON-sisaldus oli tunduvalt kõrgem lutsernipõllul võrreldes teistega (joonis 1).

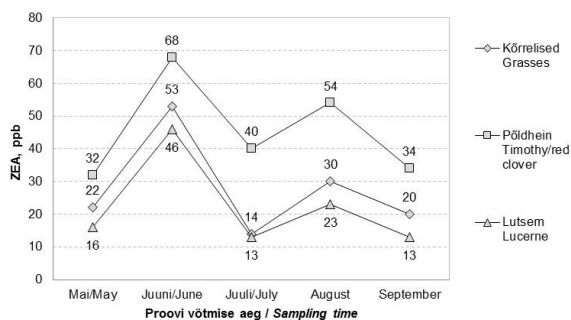


**Joonis 1.** Erineva heintaimiku deoksinivalenoolisisaldus (DON) põllul

**Figure 1.** Concentration of DON, in different grasses on the field

DON-sisaldus lutsernis tõusis juuni lõpuks 248 ppb-ni, olles augustis 270 ppb ja septembris 170 ppb, s.o enne niitmist (joonis 1). Kõrrelistel ja põldheinal selliseid suuri erinevusi ei esinenud, mida kinnitasid mõlema aasta uuringud. Esimene niide tehti juuni keskel, teine augusti keskel ja kolmas septembris lõpus ning lutsernil oktoobri algul.

ZEA-sisaldus suurenes esimese niite tegemise ajaks tunduvalt võrreldes taimede kasvu algusega, isegi 2,1–2,9 korda olenevalt heintaimikust (joonis 2). Teiseks niiteks oli ZEA-sisalduse tõus pisut väiksem. Heintaimede mikroorganismide tegevust mõjutavad peale ilmastikutingimuste ka põllul tehtavad toimingud, nagu niitmine ja väetamine (Skladanka *et al.*, 2011).

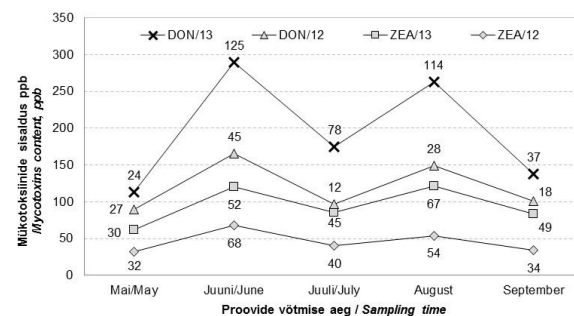


**Joonis 2.** Erinevate heintaimikute zearalenoosisaldus (ZEA) põllul

**Figure 2.** Concentration of ZEA, in different grasses on the field

Ilmastikutingimuste mõju heintaimiku (rohu) mükotoksiinide sisaldusele näitab kahel erineval aastal samadelt põldudelt kogutud proovide analüüs (joonis 3). Suur erinevus esines DON-sisalduses juunis ja augustis

2013, kus keskmine õhutemperatuur oli 4,4°C ja 2,0°C võrra soojem võrreldes 2012 aastaga (tabel 6).



**Joonis 3.** Timuti ja punase ristiku rohu mükotoksiinide sisaldus erinevatel kasvuperioodidel 2012. ja 2013. aastal

**Figure 3.** Concentration of mycotoxins of timothy/red clover grasses in different growth period on the year 2012 and 2013

Erinevate heintaimiku liikide mükotoksiinisalduse võrdlemine Tšehhis näitas, et kõige vähem oli DON-iga saastunud *F. pabulare* 31,02 ppb ja kõige enam *F. rubra* taimede segu 42,15 ppb. ZEA-sisalduse madalaim tase määrati aga *F. pabulare* materjalis. Uurimus näitas mükotoksiinidega saastatus sõltuvust liigist, koristuse ajast (DON kõrgeim juuli lõpus 51,9 ppb, ZEA oktoobri algul 86,55 ppb) ja aastast ehk ilmastikutingimustest, eriti temperatuurist ja niiskusest (Skladanka *et al.*, 2013).

## Järeldused

Põllul suurenes taimse materjali mükotoksiinidega (DON ja ZEA) saastatus kuni koristamiseni, olenedes ilmastikutingimustest ja heintaimede liigist. Vilisest valmistatud silod sisaldasid kõik mükotoksiine DON ja ZEA. Rohusilodest olid 2013. aastal DON-ile positiivsed 92% ja ZEA-le 100% siloproovidest. Silodes kuivainesisaldusega alla 25% esines vähem mükotoksiine, kõige rohkem aga kuivainesisaldusega 35–45%, kus ZEA sisaldus oli keskmiselt 332 ppb ja DON 214,4 ppb.

## Tänuavaldus

Uurimistöõ viidi läbi Põllumajandusministeeriumi projekti nr 8-2T10041 ja Haridus- ja Teadusministeeriumi projekti nr IUT8-1 toetusel.

## Kasutatud kirjandus

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 18th ed. – Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, MD, USA.
- Aragon, A.Y., Rodrigues, I., Hofstette, U., Binder, E.M. 2011. Mycotoxin in silages: Occurrence and prevention. – Iranian Journal of Applied Animal Science, 1(1), p. 1–10.
- Baliukoniene, V., Bakutis, B., Vaivadaite, T., Bartkiene, E., Jovaišiene, J. 2012. Prevalence of fungi and mycotoxins in silage and milk in Lithuania. – Veterinaria ir Zootechnika, 59 (81), p. 3–9.

- Borutova, R., Naehrer, K. 2012. Mycotoxin survey in Europe 2010. In: Proceedings of the XVI International Silage Conference (ed. Kuoppala *et al.*) Hämeenlinna, Finland, 2–4 July 2012, p. 324–325.
- Bryden, W.L. 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. – *Animal Feed Science and Technology*, vol. 173, p. 134–158.
- Cheli, F., Campagnoli, A., Dell’Orto, V. 2013. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. – *Animal Feed Science and Technology*, 183, p. 1–16.
- Driehuis, F. 2012. Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. – Proceedings of the XVI Intern Silage Conference, Hämeenlinna, Finland, 2–4 July 2012, p. 87–104.
- Driehuis, F., Spanjer, M.C., Scholten, J. M., Te Giffel, M.C. 2008. Occurrence of mycotoxins in feedstuffs of dairy cows and estimation of total dietary Intaks. – *J. Dairy Science*, 91 p. 4261–4271.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2004. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. – *The EFSA Journal*, 39, p. 1–27.
- Fink-Gremmels, J. 2006. Moulds and mycotoxins as undesirable substances in animal feeds. – In: *The mycotoxin factbook. Food&feed topics* (ed. D. Barug *et al.*), Wageningen Academic Published, p. 37–50.
- Gonzales-Pereyra, M.L., Alonso, V.A., Sager, R., Morlaco, M.B., Magnoli, C.E., Astoreca, A.L., Rosa C.A.R., Chiacchiera, S.M., Dalcerro, M., Cavaglieri L.R. 2008. Fungi and selected mycotoxins from pre- and postfermented corn silage. – *J. Appl. Microbiol.* 104, p. 1034–1041.
- Holmes, B.J., Muck E.E. 2004. Managing and designing punker and trench silos (AED-43). – *MidWest Plan Service*, Ames. IA., Experiment Station, p. 1–7.
- Johansson, M., Emmoth, E., Salomonsson, A.C., Albihn, A. 2005. Potential risks when spreading anaerobic digestion residues on grass silage crops-survival of bacteria, moulds and viruses. – *Grass Forage Science*, 60, p. 175–185.
- Jouany, J.P., Diaz, D.E. 2005. Effects of mycotoxins in ruminants. In: *Mycotoxin Blue Book*. – ADVS Faculty Publications, p. 295–322.
- Kaldmäe, H., Olt, A., Ots, M. 2011. Effect of additive on content of mycotoxins of grass silage. – *Proceedings II International Symposium on Forage Quality and Conservation*, November, 16–19<sup>th</sup> 2011. Sao Pedro, Brazil, DVD, p. 87–88.
- Mansfield, M.A., Kuldau, G.A. 2007. Microbiological and molecular determination of mycobiota in fresh and ensiled maize silage. – *Mycologia*, 99, p. 269–278.
- Nedělník, J., Moravcova, H. 2006. Mycotoxins and forage crops. Problems of the occurrence of mycotoxins in animal feeds. – *Conf. Proceedings 12th Intern. Symposium "Forage Conservation"*, 3–5<sup>th</sup> April 2006, Brno, p. 13–25.
- Nelson, C. 1993. Strategies of mold control in dairy feeds. – *J. Dairy Sci.*, 76, p. 898–902.
- Queiroz, O.C.M., Adesogan, A.T., Staples, C.R., Hun, J., Garcia, M., Greco, L.F., Oliveira, L.J. 2010. Effects of adding a mycotoxin-sequestering agent on milk aflatoxin M1 concentration and the performance and immune response of dairy cattle fed an aflatoxin B1 – contaminated diet. – *J. Anim. Sci.*, 88 (Suppl E). p. 543, Abstract 1142.
- Queiroz, O.C.M., Rabaglino, M.B., Adesogan, A.T. 2011. Mycotoxin in silage. In: *Proceedings of the II International Symposium on forage quality and conservation* (ed. J.L.P. Daniel *et al.*), Nov. 16–19<sup>th</sup>, 2011, Sao Pedro, p. 105–126.
- Pahlow, G., Muck, R.E., Driehuis, F., Oude Elferink, S.J., Spelstra S.F. 2003. Microbiology of ensiling. In: *Silage Science and Technology*, Madison, USA, p. 31–94.
- Skladanka, J., Nedělník, J., Adam, V., Doležal, P., Moravcova, H., Dohnal, V. 2011. Forage as a primary source of mycotoxins in animal diets. – *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 8, p. 37–50.
- Skladanka, J., Adam, V., Doležal, P., Nedělník, J., Kizek, R., Linduskova, H., Meija, J.E.A., Nawrath, A. 2013. How do grass species, season and ensiling influence mycotoxin content in forage? – *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10, p. 6084–6095.
- Wang, R. 2012. Estimation of silage density in bunkers silos by drilling. – *Degree project*, SLU. 32 pp.
- Whitlow, L.W., Hagler, W.M. Jr. 2005. Mycotoxins in dairy cattle: occurrence, toxicity, prevention and treatment. – *Proc. Southwest Nutr. Conf*, p. 124–138.
- Whitlow, L.W., Hagler, W.M., Hopkins, B.A. 1998. Mycotoxin occurrence in farmer submitted samples of North Carolina feedstuffs: 1989–1997. – *J. Dairy Sci.* 81 (Abstract), p. 1189.
- Yiannicouris, A., Jouany, J.P. 2002. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. – *Anim. Res.*, 51, p. 81–99.

### Mycotoxin contamination in grass and maize silage in Estonia

Helgi Kaldmäe, Andres Olt, Ragnar Leming, Meelis Ots  
*Estonian University of Life Sciences,  
 Department of Animal Nutrition,  
 F.R. Kreutzwaldi 46, 51006 Tartu*

#### Summary

Silage is widely used in farms and has important role in animal production and health. It is important to produce silage with high nutritional value and good hygienic quality. The silage quality estimated by chemical composition and fermentation parameters, but it is need the control about the composition of mycotoxins. Standard silage-making practices include grass selection, reduction of field and harvest stress and losses, rapid filling of the silo, tight packing, covering. A number of mycotoxins in silage are produced during the period of vegetation before harvest and storage in

the field. Post-harvest management of mould and mycotoxin contamination in silage depends on proper storage conditions include the opening the finished silage. The aim of this study was to determine the concentration of mycotoxins (deoxinivalenol (DON) and zearalenon (ZEA)) of silage making in Estonian farms (n=56) at the year 2011, 2012 and 2013. A total 596 grass-, 55 maize- and 10 whole crop silage samples were collected for analyses. All analyses were performed by the laboratory of the Nutrition Department of the Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences at the Estonian University of Life Sciences. In this study the silage contained mycotoxins, the positive samples of DON were 92% and of ZEA 100%, and maize silage 95.7% and 100% respectively at the 2013 year. The content of DON of grass silage was average 209 ppb and the content of ZEA was 329 ppb and in maize silage 227 ppb and 292 ppb

respectively. ZEA concentration in the first cut grass silage was a mean 257.4 ppb, the second cut 245.0 ppb and the third cut 224.4 ppb and DON concentration was 214.7 ppb, 190.8 ppb and 166.3 ppb respectively. The silage with a dry matter content <25% contained fewer analysed mycotoxins compared to silage with a dry matter 35–45%. During the growing period grass forage was contaminated with mycotoxins, most of all by DON and ZEA. Mycotoxins contents increased in the field before silage material cutting. The content of ZEA and DON increase by comparison with beginning growth of grass. The maximum levels of mycotoxin content of grass were recorded at the time of harvest. DON and ZEA content in summer period depending of the grass species and data of collection and of weather conditions.