

**KONTAMINACIJA HRANE ZA GOVEDA PLESNIMA I  
MIKOTOKSINIMA\***  
*CONTAMINATION OF CATTLE FEED WITH MOLDS AND  
MYCOTOXINS*

Vesna Krnjaja, Ž. Novaković, Ljiljana Stojanović, Dušica Ostojić-Andrić,  
N. Stanišić, D. Nikšić, Violeta Mandić\*\*

*Ukupan broj potencijalno toksigenih gljivica (plesni), ukupni aflatoksinini, zearalenon (ZON) i deoksinivalenol (DON) kao i združena pojava ZON i DON ispitivani su u 67 uzoraka hrane za goveda (koncentrat (n=21), silaža od cele biljke kukuruza (n=18), repinih rezanaca (n=4), pivskog trebera (n=2) i lucerke i trava (n=1), lucerkino seno (n=12), livadsko seno (n=7), seno od stočnog graška i ovsu (n=1) i seno od crvene deteline (n=1)) poreklom sa privatnih farmi iz 10 okruga u Republici Srbiji. Ukupan broj gljivica po 1 g hrane je bio od 0 (silaža od pivskog trebera) do  $12 \times 10^4$  (koncentrat). Identifikovane su vrste iz osam rodova gljiva: Acremonium, Alternaria, Aspergillus, Fusarium, Mucor, Penicillium, Rhizopus i Trichoderma. U svim ispitivanim uzorcima hrane za goveda ustanovljeno je prisustvo ZON (100%), dok je 98,5% uzoraka bilo kontaminirano ukupnim aflatoksinima i 92,5% uzoraka je bilo DON pozitivno. Zdržena pojava ZON i DON ustanovljena je u 92,5% uzoraka. ZON je prisutan u najvećoj prosečnoj koncentraciji u uzorku silaže od lucerke i trava ( $2.477,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), a u najmanjoj u uzorcima silaže od repinih rezanaca ( $64,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Ukupni aflatoksinini su konstatovani u najvećoj prosečnoj koncentraciji u uzorku sena od stočnog graška i ovsu ( $7,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), a u najmanjoj prosečnoj koncentraciji u uzorcima silaže od repinih rezanaca ( $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). DON je detektovan u najvećoj prosečnoj koncentraciji u uzorcima koncentrata ( $694,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), a u najmanjoj prosečnoj koncentraciji u uzorku sena od crvene deteline ( $11,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), dok u uzorcima silaže od pivskog trebera DON nije detektovan ( $0,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). U svim ispitivanim uzorcima hrane za goveda između sadržaja vlage (do 20%) i koncentracija ispiti-*

\* Rad primljen za štampu 24. 02. 2012. godine

\*\* Dr sc. Vesna Krnjaja, viši naučni saradnik, dr sc. Željko Novaković, naučni saradnik, Ljiljana Stojanović, dvm, mr sc. Dušica Ostojić-Andrić, istraživač-saradnik, dipl. inž. Nikola Stanišić, istraživač saradnik, dipl. inž. Dragan Nikšić, istraživač-saradnik, mr sc. Violeta Mandić, istraživač saradnik, Institut za stočarstvo Beograd-Zemun, Republika Srbija

vanih mikotoksina ustanovljena je negativna korelacija ( $r=-0,26$ ) sa ukupnim aflatoksinima i pozitivna korelacija sa ZON ( $r=0,36$ ) i DON ( $r=0,60$ ). Isto tako, pozitivna korelacija ( $r=0,22$ ) ustanovljena je između koncentracija ZON i DON.

*Ključne reči: hrana za goveda, toksigene gljive (plesni), ukupni aflatoksini, zearalenon, deoksinivalenol*

## Uvod / Introduction

Kontaminacija poljoprivrednih proizvoda gljivicama (plesnima) koje proizvode toksične metabolite je često neizbežna i predstavlja problem širom sveta. Relativno visok unos svežih komponenti u ishrani može dovesti do gubitaka hranljive vrednosti i imati štetan uticaj na zdravlje životinja i na produktivnost (Biagi, 2009). Smeše lošijeg hemijskog sastava će usloviti slabije proizvodne rezultate, a time i dovesti do ekonomskih gubitaka u proizvodnji (Šefer i sar., 2010).

Mikotoksini su toksične, hemijski različite sekundarne supstance ili metaboliti proizvedeni od brojnih gljivica. Postoji preko 100 vrsta gljivica koje inficiraju biljke i proizvode mikotoksine. Mikotoksini su uglavnom proizvedeni od *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium* rodova gljiva. Infekcije plesnima i proizvodnja mikotoksina mogu se razvijati u različitim fazama proizvodnje useva – u polju, u vreme žetve/berbe i transporta ili u toku skladištenja (Sultana i Hanif, 2009).

Hrana za životinje je često kontaminirana mikotoksinima, kao što su aflatoksini, deoksinivalenol (DON) i drugi trihoteceni, zearalenon (ZON), fumonizini, ohratoksin A (OTA) i ergot alkaloidi. Od navedenih mikotoksina DON je najzasupljeniji u hrani za životinje (između 20% i 100%) (Driehuis i sar., 2008).

DON proizvode gljive iz roda *Fusarium*, najčešće vrste *F. graminearum* i *F. culmorum*. Ove vrste gljiva, koje prouzrokuju truljenje, najčešće se nalaze u žitima, od kojih su pšenica i kukuruz naročito osetljivi (Abramović i sar., 2005). Kukuruz je jedna od osnovnih komponenti koncentrata za goveda. Zrno kukuruza je veoma dobar supstrat za razvoj mikroorganizama, pa ga pod određenim uslovima temperature i relativne vlage, kao i vlage u samom zrnu, većina patogena prouzrokovala truleži naseljava još u polju. Patogene vrste gljiva mogu rasti unutar napadnutog zrna stvarajući filamentozne hife i širiti se na ostala zrna tokom berbe, transporta i skladištenja (Stanković i sar., 2007). ZON je estrogenski metabolit nekoliko vrsta iz roda *Fusarium*, od kojih je glavni producent vrsta *F. graminearum*. Širom sveta pojava ZON zabeležena je u kukuruzu i silaži, kao i u drugim žitima i sircu (Sultana i Hanif, 2009). Aflatoksini su produkti gljivica iz roda *Aspergillus*, od vrsta *A. flavus* i *A. parasiticus* (Polovinski-Horvatović i sar., 2009), a OTA je sekundarni metabolit *Aspergillus* (*A. ochraceus*) i *Penicillium* (*P. verrucosum*) vrsta (Milićević i sar., 2007, 2009). Ergot alkaloidi su proizvodi vrsta iz roda *Claviceps* (Scott, 2007).

Iz perspektive govedarstva, mikotoksini imaju dvostruki značaj. Prvo, pojava aflatoksina B1 (AFB1) u hrani za goveda može narušiti bezbednost mleka i mlečnih proizvoda, zato što se AFB1 iz hrane za goveda izlučuje u obliku svog metabolita AFM<sub>1</sub> u mleku. Zato, mnoge države imaju zakonski dozvoljene limite za AFB1 u hrani za životinje i AFM1 u mleku. Kod drugih uobičajenih mikotoksina u hrani za goveda, uključujući DON, ZON, fumonizine i OTA, ne razmatra se praktični značaj sa stanovišta bezbednosti mleka i govedih proizvoda za potrošače zbog niskih doza koje se prenose iz hrane za goveda u mleko. Druga važnost je štetan uticaj mikotoksina na zdravstveno stanje životinja i produktivnost (Driehuis i sar., 2008).

Kod životinja i ljudi mikotoksini izazivaju oboljenja pod nazivom mikotoksikoze. Konzumacija mikotoksinima kontaminirane hrane može prouzrokovati akutne i hronične efekte koji mogu biti teratogeni, karcinogeni, neurotoksični i estrogeni ili imunosupresivni kod ljudi i/ili životinja. Direktne posledice su smanjen unos hrane, gubitak apetita, odbijanje hrane, smanjenje telesne mase i reproduktivnih sposobnosti, niska konverzija hrane i povećana pojava bolesti (Binder i sar., 2007). Promene prouzrokovane mikotoksinima zavise od vrste i količine mikotoksina u hrani, od dužine unošenja u organizam, kao i od genetskih (vrste, rasa, soj životinja), fizioloških (kategorija, doba života, ishrana, oboljenja) i spoljašnjih (klimatski uslovi, držanje životinja) faktora (Sinovec i sar., 2000).

Kontaminacija gljivicama i mikotoksinima useva i hrane za životinje je neizbežna pojava u procesu proizvodnog sistema u stočarstvu. Kako su u ishrani preživara uključene kombinacije različitih vrsta hrane (koncentrat, seno, silaža i dr.) onda je izvesnija mogućnost pojave više toksina. Hrana za životinje proizvedena od komponenti iz različitih lokaliteta, takođe, može biti kontaminirana sa više mikotoksina. Združena pojava mikotoksina može prouzrokovati više toksikoza. Kontaminacija mikotoksinima može biti značajna u mnogim usevima kada su vremenski uslovi pogodni za razvoj gljivica. Mikotoksini mogu prouzrokovati štetan uticaj na performanse kod životinja i prouzrokuju poremećaje u njihovom metabolizmu, čak i pri konzumiranju u ekstremno niskim koncentracijama. Mikotoksini u hrani mogu negativno uticati na imuni sistem čak pre vidljivih simptoma kao što je odbijanje hrane ili redukcija proizvodnje mleka (Wyatt, 2005; Jouany i Diaz, 2005).

Gljivice i njihovi mikotoksini imaju značajan ekonomski i komercijalni uticaj i na proizvodnju i na hranljivu vrednost inficiranih žita i krmnih biljaka. Kontaminacija plesnima menja i hranljive i organoleptičke osobine hrane za životinje i prouzrokuje rizik od toksikoza. Nesumnjivo mikotoksikoze životinja se pojavljuju remeteći zdravstvenu i proizvodnu uspešnost u stočarstvu, međutim teško se mogu proceniti ekonomski gubici kao njihova posledica.

U Republici Srbiji nema puno informacija o mikrobiološkom i mikotoksikološkom kvalitetu krmnih smeša i hrane za goveda. Iz tog razloga, cilj rada bio je proučavanje ukupnog broja potencijalno toksigenih gljivica i prirodne pojave ekonomski najznačajnijih mikotoksina, ukupnih aflatoksina, zearalenona i deoksinivalenola u hrani za goveda poreklom iz različitih regiona (okruga) u Republici Srbiji.

### **Materijal i metode rada / *Material and methods***

Ukupno 67 uzoraka hrane za goveda (koncentrat (n=21), silaža od cele biljke kukuruza (n=18), repinih rezanaca (n=4), pivskog trebera (n=2) i lucerke i trava (n=1), lucerkino seno (n=12), livadsko seno (n=7), seno od stočnog graška i ova (n=1) i seno od crvene deteline (n=1) ispitivano je za mikrobiološku i mikotoksikološku analizu. Uzorci težine od 1 kg su prikupljeni sa privatnih govedarskih farmi iz 10 okruga u Republici Srbiji (Beogradski, Podunavski, Južnobanatski, Šumadijski, Mačvanski, Kolubarski, Braničevski, Rasinski i Raški okrug). Do analize uzorci su čuvani u plastičnim kesama u frižideru na temperaturi od 4°C. Za mikrobiološku analizu korišćeni su sveži uzorci s tim da su uzorci silaže i sena iseckani sterilnim makazama, dok su za mikotoksikološku analizu uzorci sušeni na 60°C u toku tri dana, pa su zatim samleveni u mlinu (IKA A11, Nemačka).

Mikrobiološka analiza urađena je prema metodama SRPS ISO 21527-1 (2008) i SRPS ISO 21527-2 (2008). Uzorak je homogenizovan u sterilnom fiziološkom rastvoru (0,85% NaCl) u toku 2 minuta na orbitalnoj mešalici (GFL 3015, Nemačka). Posle homogenizacije pripremljena su razređenja, tako što je 1 ml homogenata sipan u 9 ml sterilnog fiziološkog rastvora da bi se dobilo razređenje  $10^{-2}$ , a od ovog sledeća razređenja. Pomoću mikropipete po 1 ml razređenja  $10^{-3}$  i  $10^{-4}$  presejani su na Dichloran Glycerol agar i Dichloran Rose Bengal agar (za uzorke silaže) u Petri kutijama (Ø100) i tako zasejane Petri kutije inkubirane su na temperaturi od 25°C u toku 5-7 dana a zatim je određivan ukupan broj gljiva.

Na osnovu morfoloških osobina, makroskopskih (izgled kolonije) i mikroskopskih (izgled spora) identifikovani su rodovi gljiva prema Watanabe (1994).

Prisustvo ukupnih aflatoksina, ZON i DON ispitivano je pomoću imunoenzimske (ELISA) metode. Homogenizovano je 5 g uzorka i 1 g NaCl u 25 ml 70% metanola u staklenoj boci od 100 ml na orbitalnoj mešalici (GFL 3015, Nemačka) u toku 30 minuta. Zatim je homogenat profiltriran kroz Whatman filter papir 1. Filtrat je dalje analiziran prema uputstvu proizvođača Celer® Techna test ELISA kitova. Apsorbansa je određivana na talasnoj dužini od 450 nm na ELISA čitač spektrofotometru (BioTek EL x 800TM, USA).

Međuodnosi između ukupnog sadržaja vlage (do 20%) u uzorcima i koncentracije ispitivanih mikotoksina, kao i korelacija između koncentracija ZON i DON, određivani su primenom Pearson korelacionog koeficijenta.

### **Rezultati i diskusija / *Results and discussion***

Ukupan broj gljivica je jedan od kriterijuma u oceni higijenskog kvaliteta i vrlo je značajan za orijentaciju u većoj i maloj verovatnoći da hrana sadrži mikotoksine. Prema Pravilniku o maksimalnim količinama štetnih materija i sasto-

jaka u stočnoj hrani (Službeni list SFRJ, 1990), smeše i sirovine za hranu za životinje ne zadovoljavaju higijenski kvalitet ako sadrže više od 300.000 gljivica u 1 g krmne smeše za starije životinje ili 50.000 za mlade životinje.

Mikrobiološkom analizom ispitivanih uzoraka hrane za goveda ustanovljeno je da broj gljivica po 1 g varira od 0 (silaza od pivskog trebera) do  $12 \times 10^4$  (koncentrat) (tabela 1). Mikroskopskim ispitivanjima determinisano je 8 rodova gljivica – *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* i *Trichoderma*, od kojih su u većini uzoraka koncentrata i sena bile najzastupljenije vrste iz rodova *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium*.

U Srbiji prema podacima Škrinjareve i sar. (2008) 97% uzoraka hrane za ishranu mlečnih krava bilo je kontaminirano gljivicama od  $7 \times 10^2 \text{ g}^{-1}$  (peletirani rezanci šećerne repe) do  $2 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$  (sveža kukuruzna silaza). Izolovano je 14 rodova gljiva od kojih su najzastupljeniji rodovi bili *Aspergillus* i *Penicillium* (Škrinjar i sar., 2008). Prema ispitivanjima Krnjaja i sar. (2008) kod većine ispitivanih uzoraka hrane za goveda poreklom sa različitih lokaliteta u Srbiji ukupan broj gljiva bio je  $2-8 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$ . Od identifikovanih vrsta gljiva najzastupljenije su bile vrste iz roda *Aspergillus* (70,5%), zatim vrste iz rodova *Fusarium* (67,6%) i *Penicillium* (50,5%) (Krnjaja i sar., 2008). U Brazilu su Simas i sar. (2007) u zrnu ječma korišćenom u ishrani goveda izolovali u najvećem procentu vrste iz roda *Aspergillus* (42,5%), zatim *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* i *Fusarium* vrste. U Iranu su iz 186 uzoraka hrane za goveda Ghiasian i Maghsood (2011) izolovali najčešće vrste gljiva iz roda *Aspergillus* (37,4%), zatim vrste iz rodova *Penicillium* (23,7%), *Fusarium* (17,5%), *Cladosporium* (9,1%), *Alternaria* (4,3%), *Rhizopus* (3,9%) i *Mucor* (3,4%).

Mikotoksikološkim ispitivanjem 67 uzoraka hrane za goveda 100% uzoraka je kontaminirano sa ZON, 98,5% uzoraka ukupnim aflatoksinima i 92,5% uzoraka je kontaminirano DON. Združena pojava ZON i DON ustanovljena je u 92,5% uzoraka. Među ispitivanim vrstama hrane za goveda ZON je najzastupljeniji u jednom ispitivanom uzorku silaže od lucerke i trava sa koncentracijom od  $2.477,5 \mu\text{g kg}^{-1}$  a najmanje zastupljen u uzorcima silaže od repinih rezanaca sa prosečnom koncentracijom od  $64,9 \mu\text{g kg}^{-1}$  ( $29,2-117,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Ukupni aflatoksini su najzastupljeniji u jednom ispitivanom uzorku sena od stočnog graška i ovsa ( $7,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), a najmanje zastupljeni u uzorcima silaže od repinih rezanaca sa prosečnom koncentracijom od  $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$  ( $0,0-2,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). DON je najzastupljeniji u uzorcima koncentrata sa prosečnom koncentracijom od  $694,2 \mu\text{g kg}^{-1}$  ( $52,0-1.149,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), a najmanje detektovan u uzorku sena od crvene deteline ( $11,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), dok u uzorcima pivskog trebera DON nije detektovan ( $0,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) (tabela 1).

Ispitivanjem korelacije između ukupnog sadržaja vlage (do 20%) u hrani za goveda i koncentracija ispitivanih mikotoksina, ustanovljena je statistički značajna pozitivna korelacija između sadržaja vlage i koncentracije DON ( $r=0,60$ ), statistički neznačajna pozitivna korelacija između sadržaja vlage i ZON ( $r=0,36$ ) i negativna korelacija ( $r=-0,26$ ) između sadržaja vlage i koncentracije ukupnih aflatoksina. Isto tako, statistički neznačajna pozitivna korelacija ustanovljena je između koncentracija ZON i DON ( $r=0,22$ ).

Tabela 1. Ukupan broj gljivica, sadržaj vlage i koncentracija ukupnih aflatoksina, ZON i DON u ispitivanim uzorcima hrane za goveda  
 Table 1. Total fungal counts, moisture content and concentration of total aflatoxins, ZON and DON in investigated cattle feed samples

Hraniva / Feed	Broj ispitivanih uzoraka / Number of investigated samples	Opseg vrednosti za ukupan broj gljiva / g hrane / Range of total fungal counts / g feed	Sadržaj vlage / Moisture content (%)	Ukupni aflatoksini / Total aflatoxins ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )		ZON ( $\text{mg kg}^{-1}$ )		DON ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	
				Opseg vrednosti / Range	Prosek / Mean	Opseg vrednosti / Range	Prosek / Mean	Opseg vrednosti / Range	Prosek / Mean
Koncentrat / Concentrate	21	$1 \times 10^3 - 12 \times 10^4$	14,0	0,3-8,7	5,9	29,3-1843,0	372,3	52,0-1149,0	694,2
Silaža od bijelke kukuruza / Silage of maize plant	18	$0 - 1 \times 10^3$	66,37	0,0-8,5	4,9	43,9-872,3	304,5	87,0-567,0	362,6
Silaža od repinih rezanaca / Silage of beet pulp	4	$1 \times 10^3 - 6 \times 10^4$	83,72	0,0-2,5	1,6	29,2-117,0	64,9	0,0-207,0	52,5
Silaža od pivskog trebera / Silage of brewer's malt	2	0	77,89	0,4-5,7	3,1	43,3-101,8	72,6	0,0	0,0
Silaža od lucerke i trava / Silage of alfalfa and grass	1	$2 \times 10^3$	52,45	6,9-6,9	6,9	2477,5	2477,5	164,0	164,0
Lucerkino seno / Alfalfa hay	12	$1 \times 10^3 - 4 \times 10^4$	10,1	0,8-8,8	6,7	169,1-606,2	354,5	0,0-391	150,0
Livadsko seno / Meadow hay	7	$1 \times 10^3 - 4 \times 10^4$	8,4	5,3-8,7	7,3	49,7-270,2	171,9	2,0-140,0	49,9
Seno od stočnog graška i ovsa / Pea and oat hay	1	$1 \times 10^3$	8,1	7,9-7,9	7,9	168,3	168,3	79,0	79,0
Seno od crvene dateline / Red clover hay	1	$2 \times 10^3$	10,2	7,7-7,7	7,7	656,4	656,4	11,0	11,0
	Ukupan broj uzorka / Number of total samples			67/66		67/67		67/62	
	Broj pozitivnih uzoraka / Number of positive samples			98,5		100		92,5	
	Učestalost % / Incidence %								

U Srbiji je mikotoksikološkim ispitivanjima hrane za mlečne krave u svim uzorcima ispitivanim tokom letnjeg, jesenjeg i prolećnog perioda pojava ZON i AFB1 zabeležena u dozvoljenim koncentracijama, izuzev kod jednog uzorka briketiranog pivskog trebera u kojem je detektovano  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$  AFB1 (Škrinjar i sar., 2008). U Pakistanu prema podacima Sultana i Hanif (2009) 51,67% uzoraka hrane za goveda je bilo kontaminirano sa AFB1 u nedozvoljenim koncentracijama prema pravilniku Evropske unije ( $<20 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). U Brazilu prisustvo aflatoksina je detektovano u 33,75% (27/80) uzoraka ječma korišćenog u ishrani goveda sa koncentracijama između 1 i  $3 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Simas i sar., 2007).

U Holandiji su Driehuis i sar. (2008) detektovali ZON u 28% uzoraka hrane za goveda i 17% uzoraka silaže sa prosečnom koncentracijom od  $125 \mu\text{g kg}^{-1}$ , odnosno  $80 \mu\text{g kg}^{-1}$ . DON je bio prisutan u 54% uzoraka hrane za goveda i 53% uzoraka silaže sa prosečnom koncentracijom od  $433 \mu\text{g kg}^{-1}$ , odnosno  $550 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Združena pojava ZON i DON je bila 100% u uzorcima hrane za goveda i 75% u uzorcima silaže (Driehuis i sar., 2008).

#### **Zaključak / Conclusion**

Na osnovu dobijenih rezultata u ovim ispitivanjima mikrobiološkog kvaliteta hrane za goveda poreklom iz različitih govedarskih farmi iz Srbije izolovane su i poljske i skladišne gljive. Ove gljivice uključuju na prvom mestu vrste iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Alternaria* koje mogu kontaminirati mnoge poljoprivredne proizvode koji su sastavni deo smeša za ishranu goveda. Ove vrste gljivica su od posebnog značaja zbog toga što su potencijalno toksigene. Rezultat toga je da je 100% ispitivanih uzoraka hrane za goveda bilo ZON pozitivno, 98,5% uzoraka je bilo kontaminirano ukupnim aflatoksinima i 92,5% uzoraka je bilo DON pozitivno. Imajući u vidu visok procenat mikotoksinima kontaminiranih uzoraka, može se izvesti zaključak da je neophodno redovno i stalno sprovoditi kontrolu higijenske ispravnosti hrane. Isto tako, ne zaostaje potreba za stalnim razvijanjem i unapređenjem strategije monitoringa gljivica i njihovih mikotoksina u cilju suzbijanja rizika od štetnog uticaja ovih kontaminenata na zdravlje ljudi i životinja.

#### **NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:**

Rad je finansiran sredstvima Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije, projekti TR-31023 i TR-31053 /

*This work has been financed by funds of the Ministry for Education and Science and Technological Development of the Republic of Serbia within projects TR-31023 and TR-31053.*

#### **Literatura / References**

1. Abramović FB, Jajić MI, Jurić BV. Determination of deoxynivalenol in corn. Matica Srpska Proc Nat Sci 2005; 108: 139-46.

2. Biagi G. Dietary supplements for the reduction of mycotoxin intestinal absorption in pigs. *Biotechnol Anim Husb* 2009; 25(5-6): 539-46.
3. Binder EM, Tan LM, Chin LJ, Handl J, Richard J. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Anim Feed Sci Technol* 2007; 137(3-4): 265-82.
4. Driehuis F, Spanjer MC, Scholten JM, te Giffel MC. Occurrence of mycotoxins in feed-stuffs of dairy cows and estimation of total dietary intakes. *J Dairy Sci* 2008; 91(11): 4261-71.
5. Ghiasian SA, Maghsood AH. Occurrence of aflatoxigenic fungi in cow feeds during the summer and winter season in Hamadan, Iran. *Afr J Microbiol Res* 2011; 5(5): 516-21.
6. Jouany J-P, Diaz DE. Effects of mycotoxins in ruminants. In: Diaz DE, editor. *The mycotoxin blue book*. Nottingham: University Press, 2005: 295-323.
7. Krnjaja V, Stojanović Lj, Tomić Z, Nešić Z. The presence of potentially toxigenic fungi in dairy cattle feed with focus on species of genus *Aspergillus*. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans* 2008; 11(4): 621-30.
8. Milićević RD, Jurić BV, Mandić M, Đorđević M. The presence of ochratoxin, a residue in blood plasma of slaughtered swine. *Matica Srpska Proc Nat Sci* 2007; 113: 55-62.
9. Milićević RD, Jurić B, Daković A, Jovanović M, Stefanović MS, Petrović IZ. Mycotoxin porcine nephropathy and spontaneous occurrence of ochratoxin a residues in kidneys of slaughtered swine. *Matica Srpska Proc Nat Sci* 2009; 116: 81-90.
10. Polovinski-Horvatović SM, Jurić BV, Glamočić D. The frequency of occurrence of aflatoxin M1 in milk on the territory of Vojvodina. *Matica Srpska Proc Nat Sci* 2009; 116: 75-80.
11. Pravilnik o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani (Službeni list SFRJ 1990; br. 2).
12. Scott PM. Analysis of ergot alkaloids – a review. *Mycotox Res* 2007; 23(3): 113-21.
13. Simas MMS, Botura MB, Correa B, Sabino M, Mallmann CA, Bitencourt TCBSC, Batatinha MJM. Determination of fungal microbiota and mycotoxins in brewers grain used in dairy cattle feeding in the State of Bahia, Brazil. *Food Control* 2007; 18(5): 404-8.
14. Sinovec Z, Palić T, Ivetić V. Značaj mikotoksikoza u veterinarskoj medicini. II Sav., Budva, 12.-16. jun 2000. godine. *Clinica veterinaria* 2000; 167-77.
15. SRPS ISO 21527-1:2008. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni – Deo 1: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima sa aktivnošću vode većom od 0,95. 2008; 1-12.
16. SRPS ISO 21527-2:2008. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni – Deo 2: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima sa aktivnošću vode manjom od 0,95 ili jednakom 0,95. 2008; 1-13.
17. Stanković S, Krnjaja V, Cvijanović G, Stanković G. Zaštita uskladištenog kukuruza od patogenih vrsta gljiva. Međunarodni naučni skup „Multifunkcionalna poljoprivreda i ruralni razvoj II“ – očuvanje ruralnih vrednosti, Beograd-Beočin, Srbija, 6-7 decembar, 2007. godine. *Tematski zbornik* 2007; druga knjiga: 1204-12.
18. Sultana N, Hanif NQ. Mycotoxin contamination in cattle feed and feed ingredients. *Pakistan Vet J* 2009; 29(4): 211-3.



19. Šefer D, Marković R, Šperanda M, Petrujković B. Hranljiva vrednost krmnih smeša za ishranu goveda na teritoriji Republike Srbije. Vet glasnik 2010; 64(1-2): 75-81.
20. Škrinjar M, Ač M, Krajinović M, Popović-Vranješ A. Zdravstveni i ekonomski značaj prisustva toksigenih plesni i mikotoksina u stočnoj hrani. Savremena poljoprivreda 2008; 57(3-4): 26-34.
21. Watanabe T. Pictorial atlas of soil and seed fungi. In: Morphologies of cultured fungi and key to species. Lewis Publishers, Boca Raton, Boston, London, Washington D.C., 1994.
22. Wyatt RD. Mycotoxin interaction. In: Diaz DE, editor. The mycotoxin blue book. Nottingham: University Press, 2005; 269-79.

## ENGLISH

### CONTAMINATION OF CATTLE FEED WITH MOLDS AND MYCOTOXINS

**Vesna Krnjaja, Ž. Novaković, Ljiljana Stojanović, Dušica Ostojić-Andrić, N. Stanišić, D. Nikšić, Violeta Mandić**

The total number of potentially toxigenic molds (fungi), total aflatoxins, zearalenone (ZON), and deoxynivalenol (DON), as well as the joint appearance of ZON and DON have been investigated in 67 samples of cattle feed (concentrate (n=21), silage of whole maize plant (n=18), beet pulp (n=4), brewer's malt (n=2), alfalfa and grass (n=1), alfalfa hay (n=12), meadow hay (n=7), pea and oat hay (n=1), and red clover hay (n=1) originating from private farms from 10 districts of the Republic of Serbia. The total number of fungi per 1 g feed ranged from 0 (silage of brewer's malt) to  $12 \times 10^4$  (concentrate). Eight fungi genus species have been identified: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* and *Trichoderma*. The presence of ZON (100%) was established in all the examined cattle feed samples, while 98.5% samples were contaminated with total aflatoxins and 92.5% samples were DON positive. The joint appearance of ZON and DON was established in 92.5% samples. ZON was present in the highest average concentration in the sample of alfalfa and grass silage ( $2477.5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) and in the lowest in beet pulp silage samples ( $64.9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Total aflatoxins were established in the highest average concentration in the pea and oat hay silage sample ( $7.9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) and in the lowest average concentration in beet pulp silage samples ( $1.6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). DON was detected in the highest average concentration in concentrate samples ( $694.2 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) and in the lowest average concentration in the red clover hay sample ( $11.0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), while DON was not detected in brewer's malt silage samples ( $0.0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). In all the examined cattle feed samples, between moisture content (up to 20%) and the concentration of examined mycotoxins, a negative correlation was established ( $r=-0.26$ ) with total aflatoxins and a positive correlation with ZON ( $r=0.36$ ) and DON ( $r=0.60$ ). Furthermore, a positive correlation ( $r=0.22$ ) was established between ZON and DON concentrations.

Key words: cattle feed, toxigenic fungi, total aflatoxins, zearalenone, deoxynivalenol

## КОНТАМИНАЦИЯ КОРМА ДЛЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПЛЕСНЯМИ И МИКОТОКСИНАМИ

Весна Крня, Ж. Новакович, Лиляна Стаоянович, Душица Остоич-Андрич, Н. Станишич, Дргана Никшич, Виолета Мандич

Совокупное число потенциально токсигенных грибов (плесни), совокупные афлатоксины, зеараленон (ЗОН) и деоксиниваленол (ДОН) словно и соединенное явление ЗОН и ДОН испытаны 67 образчиков корма для крупного рогатого скота (концентрат (n=21), силосование из целого растения кукурузы (n=18), репных лапшей (n=4), пивного зерна (n=2) и люцерны и трав (n=1), сено люцерны (n=12), луговое сено (n=7), сено из кормового гороха и овса (n=1), сено из красного клевера (n=1) происхождением с частных ферм из 10 округов в Республике Сербии. Совокупное число грибов по 1 г корма было от 0 (силосование из пивного зерна) до  $12 \times 10^4$  (концентрат). Идентифицированы виды из восьми родов грибов: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* и *Trichoderma*. Во всех испытанных образчиках корма для крупного рогатого скота, установленное присутствие ЗОН (100%), пока 98,5% образчиков было контаминировано с совокупными афлатоксинами 92,5% образчиков было ДОН положительно. Соединенное явление ЗОН и ДОН, установленное в 92,5% образчиков. ЗОН присутствующий в наиболее большой средней концентрации в образчике силосования из люцерны и трав ( $2.477,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), а в наиболее маленькой в образчиках силосования из репных лапшей ( $64,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Совокупные афлатоксины константированы в наибольшей средней концентрации в образчике сена из кормового гороха и овса ( $7,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), а в наиболее маленькой средней концентрации в образчиках силосования из репных лапшей ( $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). ДОН детектован в наибольшей средней концентрации в образчиках концентрата ( $694,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) а в наименьшей средней концентрации в образчике сена из красного клевера ( $11,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), пока в образчиках силосования из пивного зерна ДОН не детектован ( $0,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Во всех испытанных образчиках корма для крупного рогатого скота между содержанием влаги (до 20%) и концентраций, испытанных микотоксинов установлена отрицательная корреляция ( $r=0,26$ ) с совокупными афлатоксинами и положительная корреляция ( $r=0,22$ ), установленная между концентрациями ЗОН и ДОН.

Ключевые слова: корм для крупного рогатого скота, токсигенные грибы (плесни), совокупные афлатоксины, зеараленон, деоксиниваленол