

## Slutrapport projekt nr H1250018

### **Fusariummykotoxiner i halm och foder: effekter på grisars reproduktion och hälsa.**

Projektet genomfördes under 2013 i enlighet med kontraktet för år 1 samt de särskilda villkor som beslutades i kontakter med Stiftelsen Lantbruksforskning (Nilla Nilsdotter-Lindhe) i februari 2013. Undersökningarna inriktades mot att utveckla en praktiskt användbar provtagningsmetod för mögelgifterna deoxynivalenol (DON) och zearalenon (ZEA) i halm inom ramarna för det beviljade anslaget.

#### **Bakgrund**

Under senare år har kartläggningar av bl a spannmålsbranschen visat att problemen med mögelgifter i spannmål, orsakade av mögelsvampssläktet *Fusarium*, är omfattande i framförallt de västra delarna av Sverige (Wallgren et al. 2011). Halterna DON och ZEA har varit speciellt höga i havre men även andra spannmålsslag har visats innehålla toxinerna. I kartläggningar av grisgårdar, utförda av Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA), har vi visat att även halm kan innehålla såväl DON som ZEA, i vissa fall i höga koncentrationer. Grisar är det djurslag som uppvisar den högsta känsligheten för dessa mykotoxiner jämfört med andra livsmedelsproducerande djur.

En god tillgång till halm är en väsentlig del i grisarnas välfärd och innehållet av mykotoxiner i halmen riskerar därför att öka exponeringen eftersom grisarna äter icke oväsentliga mängder halm per dag. Undersökningarna vid SVA har visat att det kan föreligga stora variationer i mykotoxinhalterna mellan näraliggande grisgårdar och risken att djuren utsätts för höga halter DON och ZEA från både den egenodlade spannmålen och halmen vid omfattande fusariumangrepp är påtagliga.

#### **Genomförda aktiviteter**

Under försommaren 2013 togs kontakter med de spannmålsföretag som ingår i nätverket för att påvisa begynnande fusariuminfektioner (organiserat av föreningen Foder och Spannmål). Syftet var att, på ett tidigt stadium, få information om lämpliga provtagningsobjekt som skulle kunna användas för projektets genomförande. Ett antal personer inom Lantmännen, Svenska Foder, Foder och Spannmål (Värmland AB) kontaktades med frågor om lämpliga objekt. Baserat på denna information kontaktades sedan ett antal lantbrukare som under tidigare år haft problem med höga DON/ZEA halter i spannmålen.

#### **Förprovtagning**

En väsentlig del av projektet blev att identifiera lämpliga spannmålsfält som kunde användas för halmprovtagningen för att undvika att fält med ej detekterbara halter skulle provtagas. Arbetet blev mer omfattande än planerat eftersom färre rapporter från branschen indikerade förhöjda halter jämfört med 2011 och 2012.

I projektet valdes prover från spannmålsaxet för att detektera begynnande bildning av DON i den otröskade spannmålen. Axproverna analyserades för DON med en immunkemisk snabbmetod Lateral Fow Device, (LFD), Rida<sup>®</sup>Quick DON.

Förprovtagningsresor genomfördes i 1) Skåne (v. 31) och 2) Värmland (v. 32).

1) Axprover insamlades från 4 fält (vete, korn och råg) i trakten av Eslöv och ytterligare tre fält (vete, rågvete och havre) i närheten av Munka-Ljungby och analyserades för DON omedelbart efter torkning och tröskning av axen. Arbete utfördes i Svalöv där vi välvilligt fått låna lokaler från Lantmännen för ändamålet.

Resultaten visade att samtliga prover låg under detektionsgränsen vilket medförde att vi tillsvidare avskrev fortsatt provtagning i Skåne.

Under början av augusti fick vi in rapporter från spannmålshandeln på gårdar med förhöjda DON-halter i västra Götaland och Bohuslän men av olika skäl blev det inte möjligt att gå vidare med dessa.

2) Efter kontakter med Värmlant AB gjordes sedan en resa till grisgårdar i Värmland som tidigare haft problem med höga DON-halter belägna på Värmlandsnäs, i v. Ämtervik och i Väse.

Grödorna som provtogs var vete, havre och korn och proverna fraktades därefter till SVA för torkning och tröskning av axen samt för analys med LFD. Från samtliga gårdar påvisades DON-halter som låg över metodens bestämningsgräns i något eller några av proverna. Prover från vårkorn visade på DON-halter på ca 1000 µg/kg, i höstvete på ca 1700 µg/kg samt i havre mellan 500-1100 µg/kg.

Resultaten bedömdes som lovande och kontakter togs därför med lantbrukarna om planerad tid för tröskningen där målsättningen var att provtaga halmen strax efter skörd, något som också uppfylldes med ett undantag. På grund av olika skördetillfällen för spannmålen genomfördes halmprovtagningen vid tre olika tillfällen.

### **Provtagning av halmen**

Provtagningen av halmen gjordes med en provtagningsborr ”Hay Probe Sampler, 24” Depth, Drill Type” från Best Harvest, Saint Petersburg, FL, USA. Provtagningsborren drev av en kraftig batteridriven handborrmaskin (Makita BDF 458, 18V). Samtliga balar på fälten eller i lagret provtogs, i varje bal togs två radiella stick, ca 55 cm djupa och dessa prov slogs samman till ett prov om 15-30 g torrsubstans per bal.

Proven samlades i öppna plastpåsar och torkades under viktkontroll vid högst 60°C över natt. Proven maldes på hammarkvarn med 1 mm såll innan analys med kvantitativ ELISA (Rida®Screen DON & Rida®Screen ZON).

### **Provtagna gårdar**

Gård 1. Halm från höstvete (45 balar) från ett fält omfattande ca 8 ha.

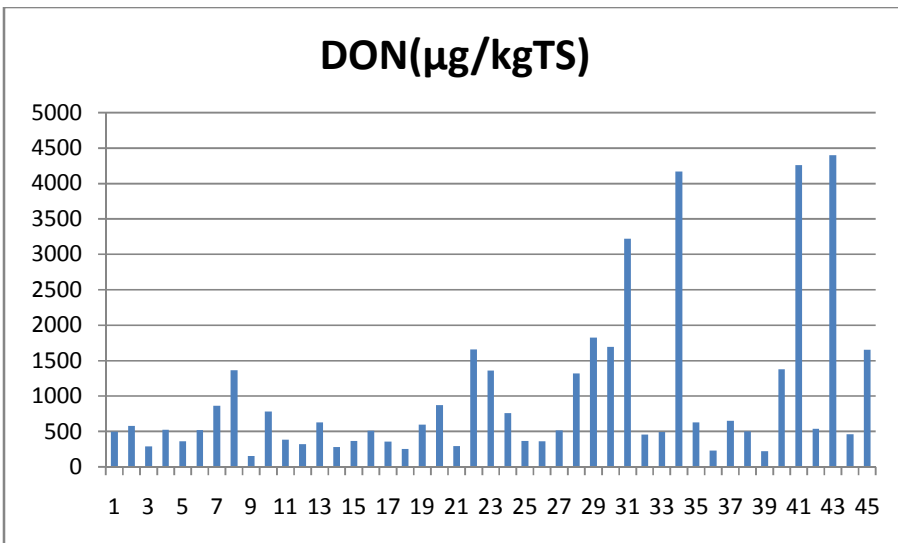
Gård 2. Halm från vårkorn (27 balar) från ett fält omfattande 8 ha.

Gård 3. Halm från havre (18 balar) från ett fält omfattande 5 ha.

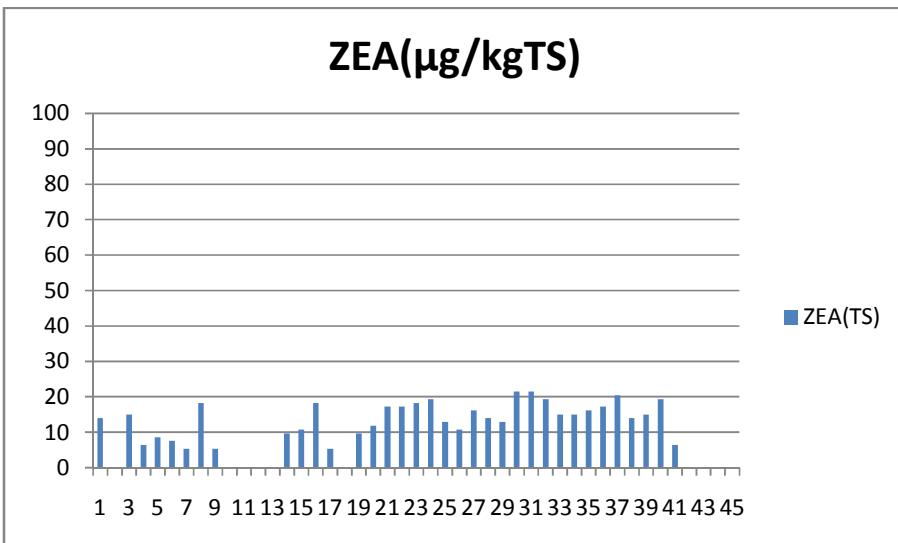
Gård 4. Halm från havre (7 balar). Halmen provtogs efter uppgifter från Värmlant AB att spannmålen innehöll höga DON-halter (> 8000 µg/kg. Balarna hade sedan skörd lagrats under tak.

### **Resultat**

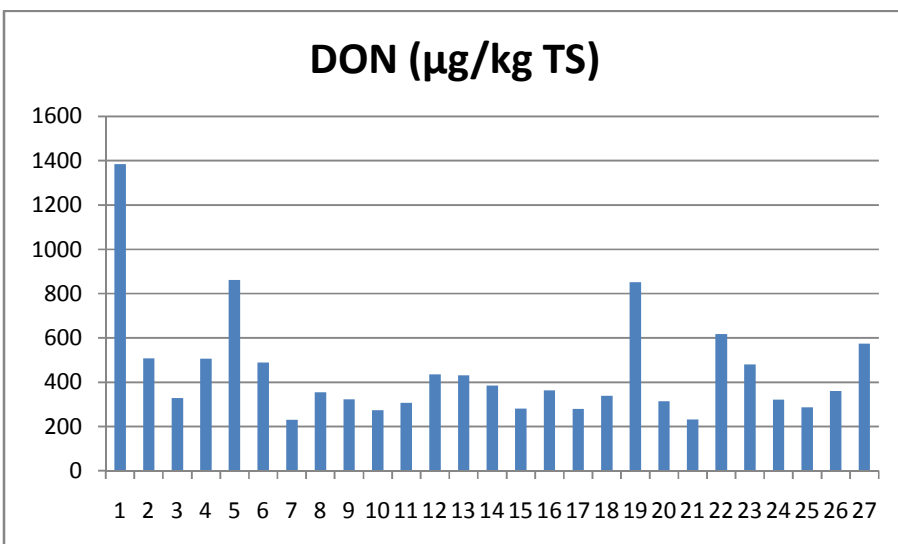
Resultaten från mykotoxinanalyserna av de enskilda halmbalarna redovisas i Figur 1-8.



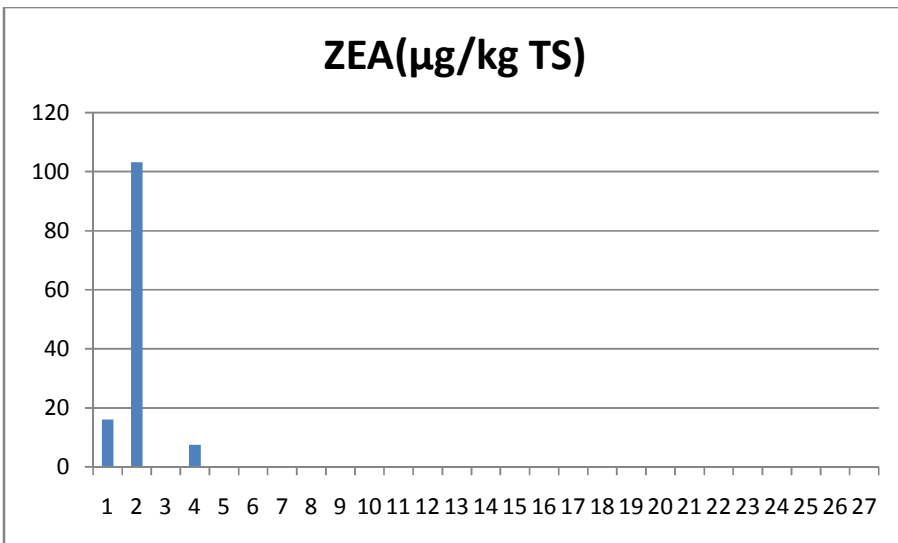
Figur 1. Innehåll av DON i enskilda halmbalar från ett höstvetefält på gård 1.



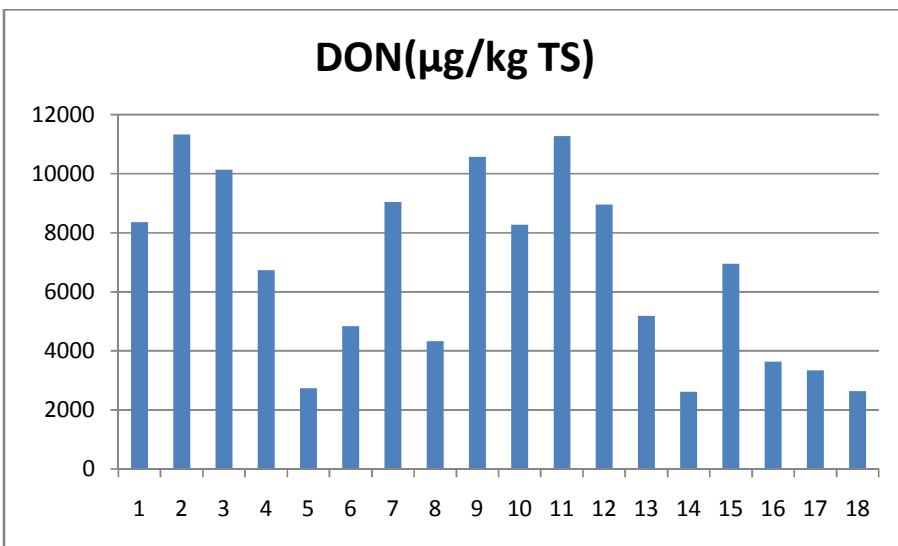
Figur 2. Innehåll av ZEA i enskilda halmbalar från ett höstvetefält på gård 1.



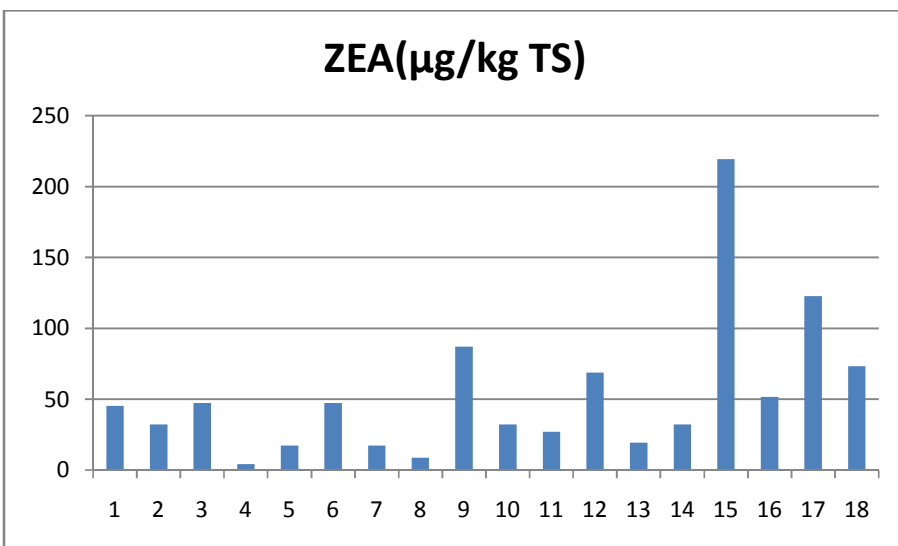
Figur 3. Innehåll av DON i enskilda halmbalar från ett kornfält på gård 2.



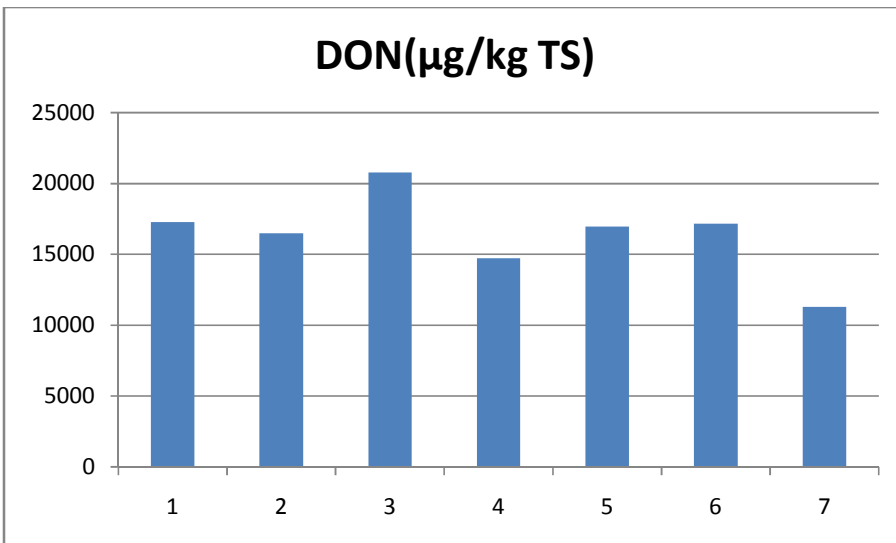
Figur 4. Innehåll av ZEA i enskilda halmbalar från ett kornfält på gård 2.



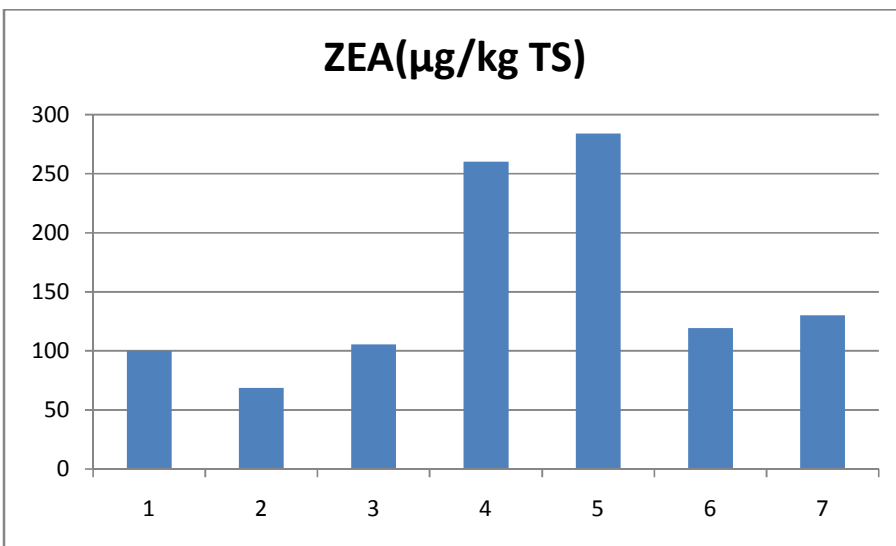
Figur 5. Innehåll av DON i enskilda halmbalar från ett havrefält på gård 3.



Figur 6. Innehåll av ZEA i enskilda halmbalar från ett havrefält på gård 3.



Figur 7. Innehåll av DON i enskilda halmbalar från ett havrefält på gård 4.



Figur 8. Innehåll av ZEA i enskilda halmbalar från ett havrefält på gård 4.

Totalt analyserades 98 prover avseende DON och ZEA med kvantitativ ELISA. I förprovtagningen gjordes sammanlagt ca 40 LFD-analyser avseende DON.

Mätningarna av DON och ZEA visar att halterna kan variera både inom ett fält men också mellan fälten. I fältet med höstvetete (Fig.1) utmärker sig några prover där DON-halterna ligger runt 4000 µg/kg medan flertalet ligger på avsevärt lägre nivåer. Generellt ligger halterna ZEA avsevärt lägre i samtliga undersökta prover jämfört med DON-halterna.

I havrehalmen (Fig.5 & 7) är DON-halterna högre och något jämnare fördelade, de högsta halterna påvisades på gård 4 med generellt mycket höga halter. DON-halterna varierade mer inom havrefältet från gård 3 än från gård 4. Fältet på gård 3 var också större, 18 balar på det förra jämfört med endast 7 på det senare. I proverna med kornhalm var DON-halterna jämförbara med vetehalmen, men utan att riktigt höga halter noterades (Fig.3 & 1).

I tabell 1 beskrivs DON-innehållet från de olika fälten i övergripande statistiska mått. Även här syns tydligt att variationen var större inom vete- och kornfälten vilka också hade snedare fördelning av

kontaminationen, något som uttrycks i att medianvärdet är väsentligt skilt från medelvärdet. Skillnaden i nivå var också tydlig med betydligt högre grad av kontamination av havrehalmen jämfört med vete- och kornhalm.

Innehållet av ZEA var också ojämnt fördelat och i likhet med DON var halterna betydligt högre i havrehalmen (Tab. 2).

*Tabell 1. DON-innehållet ( $\mu\text{g}/\text{kg TS}$ ) i halm från fyra olika fält.*

	Gård 1	Gård 2	Gård 3	Gård 4
	Vete	Korn	Havre	Havre
Medelvärde	976	449	6719	16382
Median	525	360	6841	16959
Min	152	229	2614	11287
Max	4397	1386	11329	20783

*Tabell 2. ZEA innehållet ( $\mu\text{g}/\text{kg TS}$ ) i halm från fyra olika fält.*

	Gård 1	Gård 2	Gård 3	Gård 4
	Vete	Korn	Havre	Havre
Medelvärde	11	5	53	153
Median	13	nd	39	119
Min	nd	nd	4	69
Max	22	103	219	284

## Diskussion

Resultaten bekräftar undersökningarna från 2011 och 2012 att framförallt DON men även ZEA kan förekomma i avsevärda halter i halm även under år med mer normala nederbörds- och tröskningsförhållanden. För grisproduktionen innebär detta att exponeringen från halmen periodvis kan vara betydande beroende på den intagna mängden även under år med ”bra” förhållanden. Tyska undersökningar har visat att tillgängligheten av DON från halm ligger på samma nivåer som för spannmål vilket ytterligare talar för att halmen kan vara en viktig källa för exponeringen till grisar ( Rohweder et al. 2013).

I enstaka halmprover från vete samt mer generellt i den undersökta havrehalmen visar undersökningen att det kan förekomma klart förhöjda halter vilket indikerar att t ex riktvärdet avseende helfoder till grisar kan överskridas. Om t ex DON-halten ligger på ca 4000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  räcker det med att grisen konsumerar ca 250 g halm för att för att riktvärdet skall överskridas och under förutsättningen att spannmålen inte är kontaminerad. Resultaten visar, vilket tidigare inte beaktats tillräckligt i exponeringsbedömningarna, att halmen och inte bara spannmålen/helfodret kan innebära ett väsentligt bidrag till den totala DON-exponeringen för djuren.

Resultaten föranleder även mer grundvetenskapliga frågor som t ex. fördelningen av DON i halmen, är detta orsakat av en systemisk svamptillväxt eller kan bildad DON förflyttas i växten? DON har hög löslighet i vatten och en intressant fråga är om ämnet kan förekomma utanför svampens hyfer i vilka produktionen sker. Om DON är strikt bundet till svampens hyfer tyder detta i så fall på en omfattande svampväxt i andra delar än i spannmålskärnan, t ex som följd av en systemisk förekomst. Om de uppmätta DON-halterna i halmen enbart är resultatet av en initial infektion via blomman är intressanta frågor att arbeta vidare med

En annan iakttagelse i projektet är att spannmålshalm med högt DON-innehåll kan vara mycket lokalt förekommande i en enskild åker. I undersökningen verkar denna observation vara mer uttalad i höstvetet jämfört med havren.

Denna begränsade undersökning visar att stor variation i DON-innehållet kan förekomma i halmen, vilket medför att provtagningen blir en mycket viktig del i analysprocessen. Provtagning av flera balar är alltså nödvändigt, men något absolut antal delprov går inte att sluta sig från studien, eftersom det med ett begränsat antal delprover finns risk att missa kraftigt kontaminerade delar av partiet, se till exempel figur 1. Det är därför viktigt att inte betrakta samlingsprovets resultat som ett medelvärde från en normalfördelad population med ett symmetriskt konfidensintervall. Här kan man förvänta sig starkt asymmetriska förhållanden och räkna med en betydande risk för några delar av partiet har flera gånger högre halt av DON än vad medelvärdet visar.

För grishälsningen är det viktigast att få ett redskap för att kunna sortera bort halmpartier med generellt höga halter DON/ZEA eftersom enstaka balar med höga halter kan antas ha en mindre betydelse för djurhälsan.

För att försöka förstå de bakomliggande orsakerna bakom de höga halterna i vissa halmprover kommer vi utanför projektet att låta analysera för specifika DNA segment från DON/ZEA- bildande fusariumarter för att undersöka om halterna i specifikt svamp-DNA skiljer sig mellan prover med låga och höga DON-halter.

### **Föreslagen provtagningsmetod**

Den använda borrarutrustningen visade sig fungera bra och uppskattningsvis tar det ett par minuter att genomföra provtagningen. Viktigt är att den använda bormaskinen är av tillräcklig effekt eftersom motståndet i balen kan vara påtagligt. Tömningen av borren görs genom att stöta ut provet med den medföljande staven som passar i borren, provet samlas upp i en plastpåse som sätts på borren. Minst fem balar bör provtas i fält eller vid lagring för att få en rimlig uppfattning om innehållet av DON eller ZEA. Det är dock nödvändigt att hålla den förväntat sneda fördelningen av dessa kontaminanter i minnet och räkna med att partiet har delar med minst tre gånger högre halt än medelvärdet.

Med föreslagen provtagningsmetod, omfattande fem delprover, bör man dock kunna detektera halm med generellt höga halter DON/ZEA från ett fält så att detta parti kan elimineras som strömedel. Enstaka balar med ett högre DON/ZEA innehåll bedöms ha en begränsad påverkan på grishälsan.

### **Resultatförmedling**

Den 17 december 2013 hölls ett telefonmöte med projektets referensgrupp bestående av Michael Murphy, Lantmännen, Margareta Åberg, LRF, Erik Hartman, Foder och Spannmål och Alexandre Barchiesi, Jordbruksverket där resultaten i studien presenterades. I mötet deltog även Ingemar Olsson, Sveriges grisföretagare.

Resultat från undersökningen presenterades under rubriken ”Aktuellt kring mögel- problematik” vid Sv. Djurhälsovårdens vårkonferens i Västerås, 11-12 mars, 2014.

Problemen med mögelgifter i spannmål och halm, presenterades vid SVAs monter vid grisföretagardagarna i Jönköping, 19-20 november 2013.

### **Sammanfattning**

Studien bekräftar att höga halter fusariummykotoxiner kan förekomma i halm, en källa till mögelgifter som inte tidigare uppmärksammats tillräckligt inom grisproduktionen.

De uppmätta nivåerna i halm låg i vissa fall högre än vad som påvisades i halm från 2011 och 2012 trots väsentligt bättre väderförhållanden under sommaren 2013. Den halm som undersöktes i studien hade av lantbrukarna bedömts vara utan anmärkning och därför bärgats för användning som strömedel i djurproduktionen.

Provtagning med en borr driven av en kraftig laddbar bormaskin är ett praktiskt och lätthanterligt sätt att ta halmprover. Provtagningsborren är inte dyrbar och handverktyget är normalt förekommande inom lantbruket. Eftersom proven är kortskurna är delproven lätta att blanda till ett samlingsprov som kan skickas med post för analys av DON/ZEA-halter.

### **Referenser**

Wallgren P, M Sjölund, C Hultén, E Nordkvist och P Häggblom. 2011. Ökad förekomst av fusariummykotoxiner i årets skörd. Sv. Veterinärtidning 15, 35-37.

Rohweder D, S Kersten, H Valenta, S Sondermann, M Schollenberger, W Drochner and S Dänicke. 2013. Bioavailability of the Fusarium toxin deoxynivaleno l (DON) from wheat straw and chaff in pigs. Arch of animal nutrition. 67(1):37-47.