

Communities of fungi in grass silage, corn-cob-mix silage and the whole crop corn silage

Zbiorowiska grzybów w sianokiszonce, kiszonce z ziarna oraz kiszonce z całych roślin kukurydzy

Ewa Moszczyńska¹, Rafał Ogórek¹, Ryszard Weber²

Summary

Corn silage is one of the best roughage, for cattle feeding all year round. A high quality corn silage should be characterized by a pleasant sour smell, unchanged texture and colour of plant fragments, and the absence of pollution by fungi. In 2010 fungi colonizing three types of silage have been identified, with particular emphasis on: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. and *Fusarium* spp. These three fungi species are known to produce mycotoxins toxic to humans and animals. The analysed substrates were: grass silage, corn-cob-mix (CCM) silage and the whole crop corn silage. The fungi were isolated most abundantly from the CCM silage and their species composition was most diverse there. In all three types of silage the yeast-like fungi predominated. *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. were isolated most frequently from the CCM silage, whereas they were isolated in small numbers from the grass silage and the whole crop corn silage. Other fungi: *Alternaria alternata*, *Trichoderma polysporum*, *Cladosporium herbarum*, *Rhizopus nigricans*, *Mucor hiemalis*, *Monascus* spp. were isolated sporadically. The fungi of the genus *Fusarium* were not found in the tested silages.

Key words: silage, corn-cob-mix, fungi, grass silage

Streszczenie

Kiszonce z kukurydzy należy do jednych z najlepszych pasz objętościowych, które można zastosować przez cały rok w żywieniu krów. Dobra kiszonce z kukurydzy powinna charakteryzować się przyjemnie kwaskowym zapachem, niezmienioną konsystencją i barwą fragmentów roślin oraz brakiem zanieczyszczeń i grzybów. W 2010 roku zostały określone grzyby zasiedlające trzy typy kiszonek, ze szczególnym zwróceniem uwagi na: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. i *Fusarium* spp. Gatunki tych grzybów mogą wytwarzać toksyczne dla ludzi i zwierząt mikotoksyny. Przedmiotem badań była sianokiszonce, kiszonce z ziarna oraz kiszonce z całych roślin kukurydzy. Najliczniej grzyby były izolowane z kiszonce z ziarna kukurydzy, a ich skład gatunkowy był najbardziej zróżnicowany. W trzech typach kiszonek dominowały grzyby drożdżoidalne. *Aspergillus* spp. i *Penicillium* spp. były izolowane najliczniej z kiszonce z ziarna kukurydzy, natomiast z sianokiszonce oraz kiszonce z całych roślin kukurydzy wyisobniano je nielicznie. Pozostałe grzyby: *Alternaria alternata*, *Trichoderma polysporum*, *Cladosporium herbarum*, *Rhizopus nigricans*, *Mucor hiemalis*, *Monascus* spp. wyizolowano sporadycznie. Grzyby rodzaju *Fusarium* nie były izolowane z badanych kiszonek.

Słowa kluczowe: kiszonce, ziarno, kukurydza, grzyby, sianokiszonce

¹ Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Katedra Ochrony Roślin
Zakład Fitopatologii i Mikologii
Pl. Grunwaldzki 24A, 50-363 Wrocław
ewa.moszczyńska@up.wroc.pl

² Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Herbologii i Techniki Uprawy Roli
Orzechowa 61, 50-540 Wrocław

Wstęp / Introduction

Kiszonka z kukurydzy jest jedną z najbardziej smacznych pasz objętościowych, o charakterze energetycznym, do zastosowania przez cały rok w żywieniu krów. W żywieniu krów wysokomlecznych kiszzonka z całych roślin kukurydzy powinna być podstawową paszą objętościową i stanowić dziennie do 60% suchej masy dawki pokarmowej. Kiszzonka z ziarna kukurydzy jest doskonałą paszą dla krów wysokowydajnych. Jakość kiszzonek zależy od jakości zakiszanej masy, techniki zakiszania oraz sposobu ich skarmiania. Kiszzenie wilgotnego ziarna, powyżej 25% wilgotności, jest technologią prostą, wymagającą rozdrobnienia ziarna i zakiszania w rękawach foliowych, zbiornikach betonowych lub dołach ziemnych wyłożonych folią. Ziarno kukurydzy w momencie zbioru zawiera 30–35% wody, co może sprzyjać szybkiemu rozwojowi grzybów i bakterii, powodując psucie ziarna. Duża liczebność grzybów rodzaju *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* i *Monascus* może spowodować zmianę konsystencji, barwy, zapachu kiszzonek i niemożliwość wykorzystania jej do skarmiania zwierząt (Kostulak-Zielińska i wsp. 2002). Istnieje także możliwość przechodzenia mikotoksyn, produkowanych przez te grzyby do produktów pochodzenia zwierzęcego, co może stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi. Dlatego po omłocie ziarno powinno być zakonserwowane przez kiszenie, suszenie lub dodatek preparatów chemicznych. Jakkolwiek prawidłowy proces kiszenia pasz może zapobiec powstawaniu mikotoksyn, to jednak nie eliminuje metabolitów wtórnych wytwarzanych przez grzyby, jeśli rośliny uległy porażeniu w czasie wegetacji (Tekiel 2008).

Celem pracy było określenie grzybów zasiedlających trzy typy kiszzonek, ze szczególnym uwzględnieniem: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. i *Fusarium* spp. mogących wytwarzać toksyczne dla ludzi i zwierząt mikotoksyny.

Materiały i metody / Materials and methods

Przedmiotem badań były trzy typy kiszzonek: sianokiszzonka zebrana w maju 2010 roku (kostrzewa, życica i rajgras), kiszzonka z całych roślin kukurydzy (liście, łodygi i ziarno) oraz kiszzonka z ziarna kukurydzy. Badania zostały przeprowadzone na 15 próbach kiszzonek: po 5 pojemników z każdej kiszzonek. Analiza mikologiczna została wykonana na 150 szalkach Petriego, na których wyłożono 900 inokulów, stanowiących fragmenty liści i źdźbeł traw oraz ziarna, łodyg i liści kukurydzy. Fragmenty roślin zostały wyłożone na zestaloną pożywkę PDA (Potato Dextrose Agar). Do pożywki został dodany antybiotyk (chloramfenikol – 8,3 ml/1litr pożywki PDA) w celu uniemożliwienia wzrostu bakterii. Szalki były przechowywane w temperaturze pokojowej. Pojawiające się kolonie grzybów były odczepiane na skosy z zestawioną pożywką glukozowo-ziemniaczaną. Wyizolowane kolonie grzybów były oznaczane według dostępnych monografii (Raper i Fennel 1965; Raper i Thom 1968; Rifai 1969; Ellis 1971; Hanlin 1997).

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Najlepszym sposobem konserwacji kukurydzy jest zakiszanie, które przy prawidłowej technice (zbiór, rozdrobnienie, ubicie i okrycie) umożliwia uzyskanie dobrej kiszzonek.

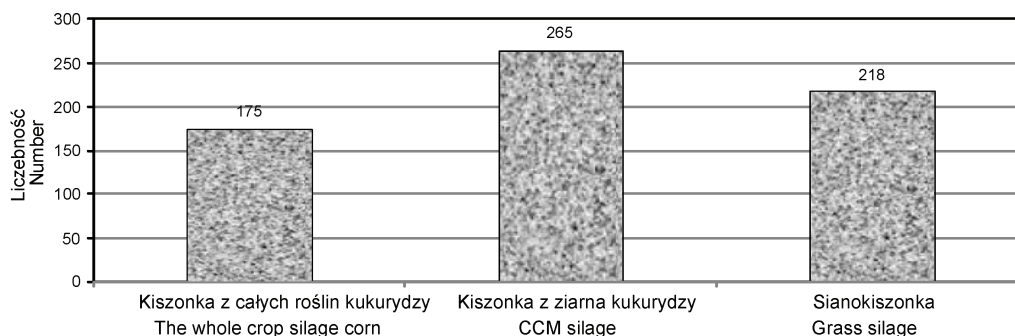
Ocena organoleptyczna trzech badanych kiszzonek wykazała, że kiszzonka z ziarna oraz całych roślin kukurydzy, a także sianokiszzonka były dobrze rozdrobnione, z widocznymi elementami organów roślin. Charakteryzowały się przyjemnie kwaskowym zapachem. Makroskopowo nie stwierdzono obecności grzybnii oraz innych zanieczyszczeń. Skarmianie kiszzonek, na których stwierdzono obecność grzybów wiąże się z niższym ich pobieraniem przez zwierzęta, może prowadzić do chorób wywołanych przez mikotoksyny, a nawet doprowadzać do upadku młodych zwierząt (Clarke 1988).

Przeprowadzona analiza mikologiczna wykazała, że najwięcej kolonii grzybów uzyskano z kiszzonek z ziarna kukurydzy (265 kolonii) oraz sianokiszzonek (218 kolonii), natomiast najmniej z kiszzonek z całych roślin (liście, łodygi i ziarno kukurydzy) (175 kolonii) (rys. 1).

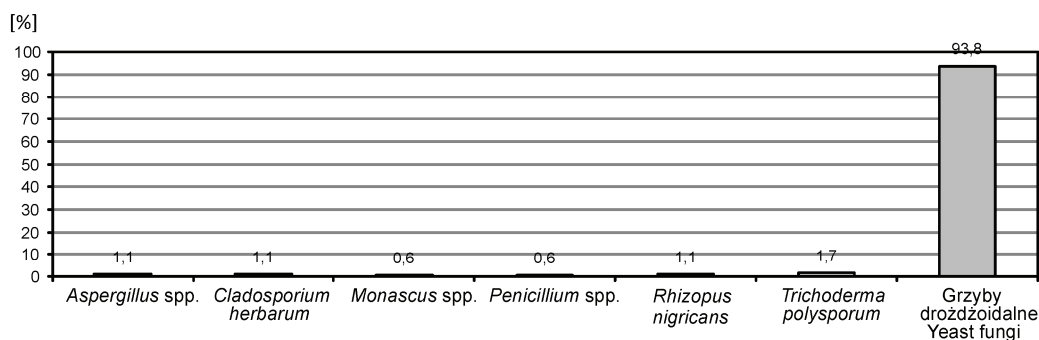
W kiszonce z całych roślin (liście, łodygi i ziarno kukurydzy) dominowały kolonie drożdżoidalne, które stanowiły 93,8% ogółu izolatów. Pozostałe grzyby rodzaju: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Monascus* oraz *Rhizopus nigricans*, *Trichoderma polysporum* i *Cladosporium herbarum* stanowiły bardzo mały procent wszystkich wyizolowanych (od 0,6 do 1,7%) (rys. 2).

Z kiszzonek z ziarna kukurydzy najliczniej wyizolowano kolonie drożdżoidalne (70,9%). Dość licznie były izolowane grzyby rodzaju *Penicillium* (15,1%). Grzyby rodzaju: *Monascus* i *Aspergillus* oraz *R. nigricans* i *M. hibernicus* stanowiły niewielki procent wszystkich wyizolowanych grzybów, odpowiednio: 4,9; 0,8; 3,4 i 3,4%. *T. polysporum* i *C. herbarum* były izolowane jako pojedyncze kolonie (rys. 3). Z przeprowadzonych badań wynika, że brak makroskopowo widocznej grzybnii i zarodników na powierzchni kiszzonek nie wyklucza zasiedlenia ich przez toksynotwórcze grzyby rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus*.

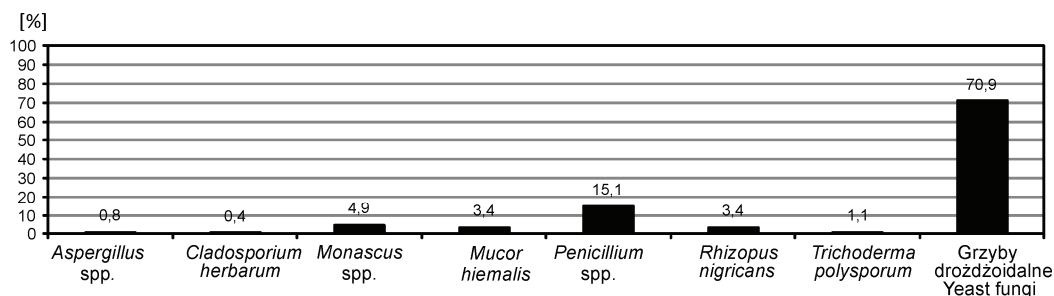
Skład mikroflory epifitycznej w zakiszanej masie jest zależny od jakości i rodzaju surowca oraz czynników środowiskowych. Aktywność *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. i *Mucor* spp., mających negatywny wpływ na jakość kiszzonek, jest ograniczana przez odcięcie dostępu powietrza w zakiszanej masie (Purwin i wsp. 2006). Po otwarciu zbiornika rozpoczyna się proces tlenowego rozkładu kiszzonek, a zawarte w niej składniki pokarmowe, takie jak białko ogólne, cukry proste, kwasy organiczne, stanowią pożywkę dla rozwoju drożdży oraz grzybów. Na zakiszanej kukurydzy grzyby rodzaju: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* łącznie mogą produkować aflatoksyny, ochratoksynę A, trichoteceny oraz zearalenon (Gajęcki i wsp. 2008). Mikotoksyny tych grzybów mogą mieć działanie teratogenne, kancerogenne, mutagenne oraz immunosupresyjne (Chelkowski 1985). Zła jakość surowca, niewłaściwa technika zakiszania oraz wybierania kiszzonek może spowodować wzrost liczebności *Penicillium roqueforti* i *Monascus ruber*, powodujących występowanie w kiszonce ich wtórnych metabolitów (Grajewski i wsp.



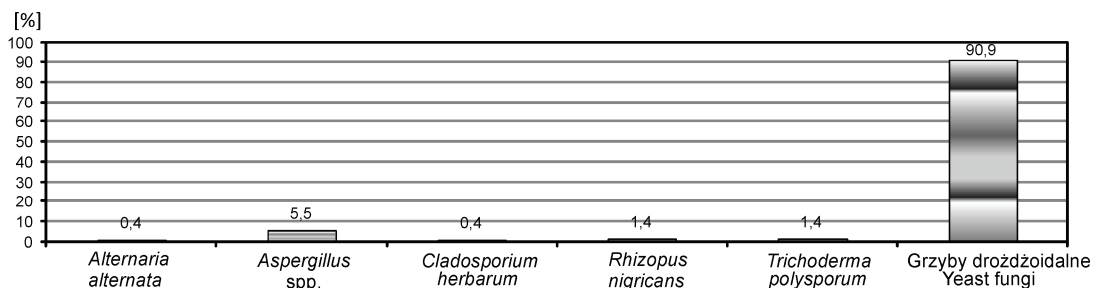
Rys. 1. Liczebność grzybów wyizolowanych z kiszonki z całych roślin kukurydzy, z ziarna kukurydzy oraz z sianokiszonki
Fig. 1. The number of fungi isolated from the whole crop silage corn, CCM silage and grass silage



Rys. 2. Procentowy udział grzybów wyizolowanych z kiszonki z całych roślin kukurydzy
Fig. 2. Percentage share of fungi isolated from the whole crop silage corn



Rys. 3. Procentowy udział grzybów wyizolowanych z kiszonki z ziarna kukurydzy
Fig. 3. Percentage share of fungi isolated from CCM silage



Rys. 4. Procentowy udział grzybów wyizolowanych z sianokiszonki
Fig. 4. Percentage share of fungi isolated from grass silage

2007). Jednak, jak podają Chen i wsp. (2007) grzyby rodzaju *Monascus* były używane od tysięcy lat w Chinach do fermentacji jedzenia takiego, jak szynka wieprzowa i wino ryżowe.

W literaturze znane są wyniki badań określających wpływ konserwantów z udziałem kwasu mrówkowego na obniżenie liczebności drożdży, grzybów i bakterii w kiszonkach przygotowanych z mieszanek traw i motylkowych (Selwet 2004, 2005). Natomiast mało jest doniesień

dotyczących grzybów zasiedlających sianokiszonkę. Z badanej sianokiszonki najliczniej wyosobniano kolonie drożdżoidalne (90,9%). Grzyby rodzaju *Aspergillus* stanowiły 5,5% ogółu izolatów, natomiast *Penicillium* spp. nie były izolowane. Pozostałe gatunki grzybów: *Alternaria alternata*, *R. nigricans*, *T. polysporum* i *C. herbarum* stanowiły od 0,4 do 1,4% wszystkich izolatów (rys. 4).

Badana sianokiszonka nie była zasiedlona przez grzyby rodzaju *Acremonium*. Obecność tych grzybów w sianie z kostrzewy, służącej do wypasu bydła, powodowała zmniejszenie dziennego przyrostu zwierząt (Schmidt i wsp. 1982).

Z sianokiszonki oraz z 2 typów kiszonek z kukurydzy grzyby rodzaju *Fusarium* nie były izolowane, co świadczy o tym, że materiał roślinny użyty do zakiszania nie był porażony w czasie wegetacji przez te grzyby, a proces zakiszania został przeprowadzony prawidłowo (rys. 2, 3, 4).

Jak wynika z badań Tekieli (2008) fuzarioza kolb kukurydzy może spowodować pogorszenie jakości ziarna i paszy, ze względu na produkowanie i kumulowanie w ziarniakach niekorzystnych mikotoksyn. Zazwyczaj jednak toksyny produkowane przez *Fusarium* spp. są przekształcane przez mikroorganizmy żwacza w mniej toksyczne pochodne (Swanson i wsp. 1987). Według Selweta i wsp. (2008) podczas kiszenia gina przetrwalniki

grzybów i występuje częściowa redukcja mikotoksyn przez florę bakteryjną i enzymy roślinne.

Wnioski / Conclusions

1. Grzyby rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus* były izolowane sporadycznie z sianokiszonki oraz kiszonki z całych roślin kukurydzy, co świadczy o dobrej ich jakości.
2. Kiszonka z ziarna kukurydzy była najliczniej zasiedlona przez grzyby rodzaju *Penicillium*, co wskazuje, że sporządzenie i wykorzystywanie kiszonki nie było optymalne.
3. W trzech typach badanych kiszonek dominowały grzyby drożdżoidalne.
4. Grzyby rodzaju *Fusarium* nie były izolowane z badanych kiszonek, co wskazuje, że materiał roślinny użyty do zakiszania nie był porażony w czasie wegetacji przez te grzyby.
5. Kiszonki powinny być poddawane stałym ocenom mikologicznym, ze względu na możliwość występowania w nich toksynotwórczych grzybów rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*.

Literatura / References

- Chełkowski J. 1985. Mikotoksyny, Wytwarzające je Grzyby i Mikotoksykazy. Wyd. SGGW – AR, Warszawa, 96 ss.
- Chen Y., Tseng C., Liaw L., Wang C., Yuan G. 2007. Characterization of MRT, a new non-LTR retrotransposon in *Monascus* spp. Botanical Studies 48: 377–385.
- Clarke A.F. 1988. Mycology of silage and mycotoxicosis. p. 19–33. In: „Silage and Health” (B.A. Stark, J.M. Wilkinson, eds.). Chalcombe Publications, Marlow Bottom, Bucks, 57 pp.
- Ellis M.B. 1971. Dematiaceous *Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological, Instytut Key Surrey, England, 608 pp.
- Gajęcki M., Jakimiuk E., Gajęcka M., Motyka J., Obremski K., Zielenka Ł. 2008. Praktyczne metody zmniejszania aktywności mikotoksyn w paszach. Praca wykonana w ramach projektu celowego KBN nr 6 ZR& 2008C/07031, referat 15–16.06.2010. Konkurencyjny chów zdrowych prosiąt i tuczników – wyzwanie dla hodowców i lekarzy weterynarii. Państwowy Instytut Weterynaryjny PIB, Zakład Chorób Świń, Puławy, 12 ss.
- Grajewski J., Potkański A., Raczkowska-Werwinska K., Twarużek M., Miklaszewska B., Grabowska A., Gubała A., Selwet M. 2007. Jakość higieniczna kiszonki z kukurydzy zakiszanej z dodatkiem biologicznym lub chemicznym. Medycyna Wet. 63 (2): 205–208.
- Kostulak-Zielińska M., Potkański A., Przybylski M., Selwet M., Perkowski J. 2002. Wartość higieniczna kukurydzy zakiszanej z dodatkiem konserwantu chemicznego. Medycyna Wet. 58 (10): 792–795.
- Hanlin R.T. 1997. Illustrated Genera of *Ascomycetes*. Volume I i II. APS Press, St. Paul, MN, 258 pp.
- Purwin C., Łaniewska-Trokenheim Ł., Warminska-Radyko I., Tywończuk J. 2006. Jakość kiszonek – aspekty mikrobiologiczne, zdrowotne i produkcyjne. Medycyna Wet. 62 (8): 865–869.
- Raper K.B., Fennel D.I. 1965. The Genus *Aspergillus*. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 686 pp.
- Raper K.B., Thom C. 1968. A Manual of the *Penicillia*. Hafner Publishing Company, New York and London, 875 pp.
- Rifai M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Pap. 116: 1–56.
- Selwet M. 2004. Wpływ kwasu mrówkowego na stan mikrobiologiczny kiszonek. Medycyna Wet. 60 (7): 763–765.
- Selwet M. 2005. Wpływ konserwantów z udziałem kwasu mrówkowego na rozwój drożdży i grzybów pleśniowych w kiszonkach. Medycyna Wet. 61 (3): 349–352.
- Selwet M., Raczkowska-Werwinska K., Potkański A., Grajewski J., Twarużek M., Miklaszewska B., Łukomska V., Gubała A. 2008. Skład chemiczny i mikroflora kiszonki z kukurydzy zakiszanej z dodatkiem bakteryjnym i chemicznym. Medycyna Wet. 64 (4A): 477–479.
- Schmidt S.P., Hoveland C.S., Clark E.M., Davis N.D., Smith L.A., Grimes H.W., Holliman J.L. 1982. Association of an endophytic fungus with fescue toxicity in steers fed Kentucky 31 tall fescue seed or hay. J. Animal Sci. 55 (6): 1259–1263.
- Swanson S.P., Nicoletto J., Rood H.F., Buck W.B., Cote L.M. 1987. Metabolism of three trichothecene mycotoxins, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol and deoxynivalenol by bovine rumen microorganisms. J. Chromatogr. 414: 335–342.
- Tekiela A. 2008. Fuzarioza kolb kukurydzy i skażenie ziarna przez mikotoksyny w Wielkopolsce i na Podkarpaciu. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 48 (3): 1121–1125.