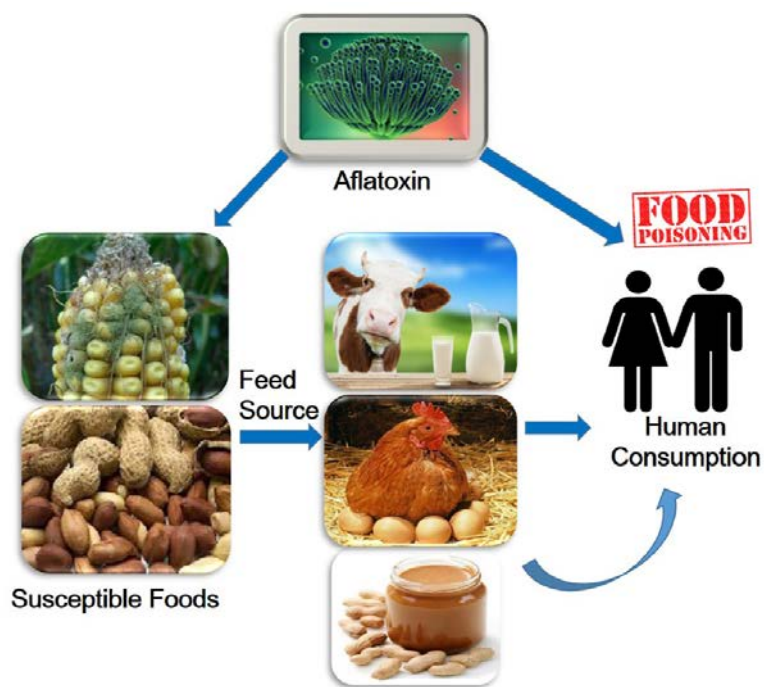


Aflatoksini – putem tla i usjeva do životinja i ljudi

Fitopatogene gljivice na tlu uglavnom su povezane s bolestima usjeva. Međutim, učinci gljivične infekcije mogu se osim na biljke negativno očitovati na zdravlje ljudi i životinja. Mikotoksigene gljivice mogu proizvesti sekundarne metabolite poznate kao mikotoksini, za koje je poznato da mogu predstavljati rizik za zdravlje kada su prisutni u hrani za ljude i životinje. Mikotoksini su spojevi bez mirisa i okusa, pa je njihovo prepoznavanje u hrani od strane konzumenta otežano. Nadalje, mikotoksini su otporni na toplinu i podnose širok raspon pH, što ih čini teško razgradivima.

Proizvodnja aflatoksina započinje u tlu, prirodnom staništu gljivica *Aspergillus* spp., koje proizvode toksine, a na njihovu proizvodnju utječu poljoprivredne prakse, uvjeti okoliša i interakcija gljivica s biljkom. Gljivice se dalje raspršuju tijekom skladištenja, što može dovesti do velikog povećanja njihove koncentracije. Posljedično, aflatoksin tada ljudi ili životinje mogu konzumirati u sirovoj ili prerađenoj hrani, odnosno hrani za životinje (Slika 1.). Pri tome, različiti oblici aflatoksina prepoznaju se kao humani kancerogeni, a veća izloženost je uglavnom povezana s razvojem hepatocelularnog karcinoma.



Slika 1. Put aflatoksina do čovjeka (Kumar i sur., 2017.)

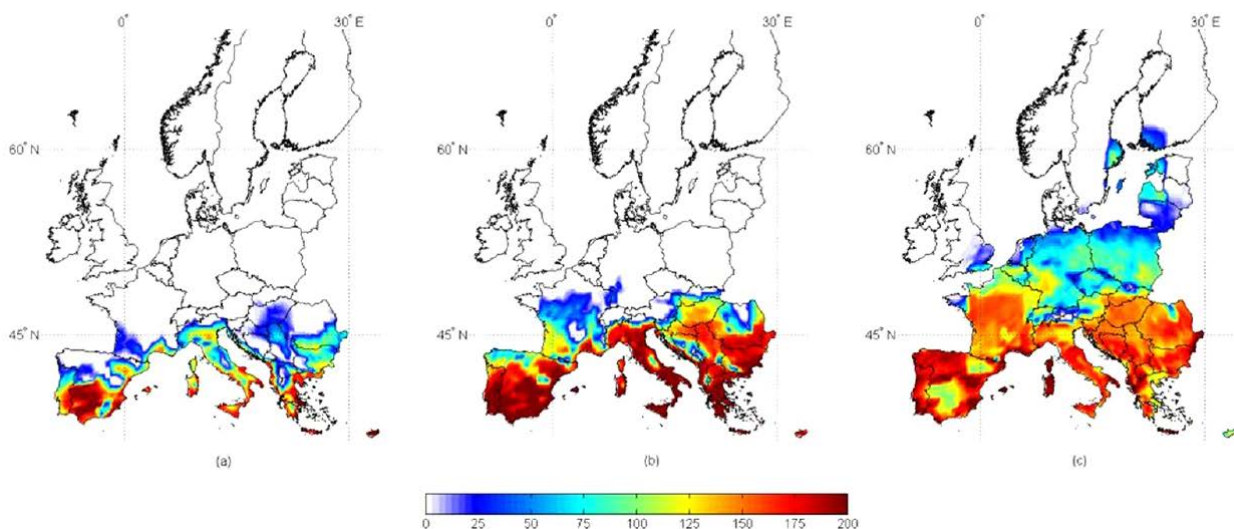
Aflatoksini imaju najveću akutnu i kroničnu toksičnost od svih mikotoksina, stoga je u svijetu regulirana maksimalna koncentracija u poljoprivrednim proizvodima i hrani za životinje te animalnim proizvodima. Prisutnost mikotoksina u hrani također nosi ozbiljne ekonomske implikacije zbog gubitka usjeva, troškova analize i provođenja regulatornog sustava, a ekonomski utjecaj onečišćenja mikotoksinima premašuje milijardu američkih dolara.

Gljivica *Aspergillus flavus*, najvažniji uzrok onečišćenja aflatoksinima, ima dva glavna morfotipa koja se obično nazivaju 'S' i 'L' sojevi. Izolati soja S u prosjeku proizvode više aflatoksina od izolata soja L. U istraživanjima Jaime-Garcia i sur. (2010.), temperatura površine tla uvelike je utjecala na gljivične zajednice s gustoćom koja se smanjivala kada je prosječna dnevna temperatura tla bila ili ispod 18°C ili

iznad 30°C, a udio *A. flavus* koji pripada opasnijem soju S povećavao se s porastom temperature tla. Rezultati sugeriraju da plodored usjeva i temperatura tla utječu na strukturu zajednice *Aspergillus flavus* u tlu.

Kancerogeni aflatoksin B1 (AFB1) u usjevima, koji proizvodi *Aspergillus flavus* značajna je opasnost vezana za sigurnost hrane i postoji puno radova koji izvještavaju o povećanim koncentracijama u usjevima. Ipak, informacije o pojavi AFB1 u tlu i ostacima usjeva su rijetke. Dokazano je da se AFB1 proizvodi u površinskom tlu, osobito u prisutnosti ostataka kukuruza (Accineli i sur., 2008.). Isti autori laboratorijskim eksperimentima su dokazali da se AFB1 brzo razgrađuje u tlu na 28°C (poluvrijeme $t_{1/2}$ = 5 dana). Čak i unutar jednog polja može se pronaći širok raspon prisutnosti gljivica *A. flavus*, koje variraju u potencijalu za stvaranje aflatoksina (Abbas i sur., 2004.). Isti autori u trogodišnjoj studiji procjenjivali su ekologiju *A. flavus* kroz prostornu varijabilnost populacija u polju pod različitim usjevima. Na populaciju *A. flavus* u tlu značajno je utjecao prethodni usjev.

Inače, kontaminacija usjeva aflatoksinima česta je u toplim regijama širom svijeta. Klimatske promjene zabilježene su kao pokretač novih problema sa sigurnošću hrane i hrane za životinje, a moguća promjena u obrascima pojavljivanja aflatoksina u usjevima uslijed klimatskih promjena zabrinjava, što može zahtijevati poduzimanje preventivnih radnji. Vrlo je zanimljivo istraživanje Battilani i sur. (2016.), koji su imali za cilj istraživanja predvidjeti onečišćenje aflatoksinima u usjevima kukuruza i pšenice u sljedećih 100 godina, pod scenarijem klimatskih promjena od +2°C i +5°C, primjenjujući pristup modeliranja. Rezultati ukazuju da će AFB1 postati značajno pitanje sigurnosti hrane u kukuruзу u Europi, čak i u scenariju od +2°C, kao najvjerojatnijem scenariju klimatskih promjena koji se očekuje u sljedećih nekoliko desetljeća (Slika 2.).



Slika 2. Karte rizika za onečišćenje aflatoksinima u kukuruзу u berbi u 3 različita klimatska scenarija: trenutni, +2°C, +5°C. Srednji dnevni podaci korišteni su kao input za predviđanje za sljedećih 100 godina upotrebom ALFA-maize modeliranja u 2254 georeferentne točke širom Europe, u 3 scenarija. Skala 0–200 odnosi se na indeks rizika od aflatoksina (AFI) (Battilani i sur., 2016.).

Kontaminacija AFB1 negativno utječe na ljudsko zdravlje narušavajući dugoročni fizički i kognitivni razvoj. Više vrsta usjeva povezano je s onečišćenjem AFB1, a kukuruz je samo jedan od najznačajnijih. Neadekvatne poljoprivredne prakse mogu utjecati da se AFB1 transportira iz tla u klasje (Jayaratne i sur., 2020.). Zato je neophodno otkrivati i kvantificirati AFB1 paralelno u kukuruзу i tlima. Za potrebe

procjene rizika, sudbine mikotoksina potrebno je pratiti od ekologije njihovih proizvođača u tlu (*A. flavus*) do prisutnosti prije žetve u biljkama, nakon berbe u uskladištenom zrnu i njihovog učinka na zdravlje i dobrobit ljudi. Lanac konzumacija toksina putem životinja može se produžiti na ljude prehrambenim proizvodima životinjskog podrijetla, poput mlijeka. U istraživanjima Bilandžića i sur. (2014.a), koncentracija aflatoksina M1 (AFM1) premašila je najveću dopuštenu količinu ostataka (MRL) vrijednosti u 6,7% uzoraka kravljeg mlijeka iz istočne Hrvatske te je pronađena značajna razlika između srednjih koncentracija AFM1 kravljeg mlijeka iz istočne i ostalih regija Hrvatske, što ukazuje na upotrebu kontaminirane dopunske krme na nekim farmama tijekom razdoblja ispitivanja. Nadalje, Bilandžić i sur. (2014.b) našli su značajne razlike u kontaminiranosti mlijeka aflatoksinima s obzirom na sezonu unutar godine. Tako su razine AFM1 premašile najveću dopuštenu količinu ostataka (MRL) na području EU u čak 45,9% sirovih i 36,2% UHT uzoraka mlijeka u veljači, dok je u razdoblju od ožujka do lipnja zabilježen blagi pad broja uzoraka koji prelaze MRL vrijednosti.

Pleadin i sur. (2015) imali su za cilj studije istražiti godišnje i regionalne razlike u razini AFB1 u žitaricama i stočnoj hrani za mliječna goveda u Hrvatskoj. Rezultati su pokazali da je pojava AFB1 u značajnoj mjeri ovisna o regiji uzgoja, s najvišim razinama koje su općenito zabilježene u kukuruzu ubranom klimatski kritične 2013. godine i posljedično u mješavinama žitarica i hrani za stoku koja se najvjerojatnije može povezati sa osobitim klimatskim uvjetima te godine kao presudnim čimbenikom za stvaranje plijesni, a time i za proizvodnju AFB1.

Zaključno, svaka od faza u kojima može doći do povećanja koncentracije aflatoksina zahtjeva kritičku analizu i pri tome je izuzetna važnost razumijevanja interakcija tlo-gljivica-biljka kao ključnih koraka u razvoju uspješnih strategija za smanjenje izloženosti mikotoksinima (Winter, 2019.). Većina istraživanja usredotočuje se na onečišćenje aflatoksinima nakon žetve u hrani za životinje i hrani za ljude, ali dostupne su vrlo ograničene informacije o onečišćenju aflatoksinima i njegovim toksikološkim posljedicama u ekosustavu tla. Mnogi aspekti pojave, razgradnje aflatoksina i učinci njegovih proizvoda transformacije u okolišu tla još su uvijek nepoznati i ostaju važno područje istraživanja zdravlja i produktivnosti tla (Fouche, 2020.). Imajući u vidu sve navedene recentne podatke, u okviru projekta financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ) "Procjena konzervacijske obrade tla kao napredne metode uzgoja usjeva i prevencije degradacije tla", koncentracija aflatoksina mjeri se u tri različite kulture (kukuruz, soja, pšenica), kao i u samome tlu, pri različitim sustavima obrade tla. Razlike u vezi s rotacijom kultura i klimatskim promjenama promatraju se i analiziraju statistički, a dobiveni rezultati koristit će se za procjenu rizika o mogućem utjecaju utvrđenih kontaminacija aflatoksinima na zdravlje ljudi i životinja.

Literatura:

- Abbas, H.K., Zablutowicz, R.M., Locke, M.A. (2004): Spatial variability of *Aspergillus flavus* soil populations under different crops and corn grain colonization and aflatoxins. *Canadian Journal of Botany*, 82(12), 1768-1775. <https://doi.org/10.1139/b04-131>
- Accinelli, C., Abbas, H.K, Zablutowicz, R.M., Wilkinson, J.R. (2008): *Aspergillus flavus* aflatoxin occurrence and expression of aflatoxin biosynthesis genes in soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 54, 5. <https://doi.org/10.1139/W08-018>

- Battilani, P., Toscano, P., Van der Fels-Klerx, HJ, Moretti, A., Leggieri, M.C., Brera, C., Rortais, A., Goumperis, T., Robinson, T. (2016): Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. *Scientific reports*, 1-7. <https://doi.org/10.1038/srep24328>
- Bilandžić, N., Božić, D., Dokić, M., Sedak, M., Kolanović, B.S., Varenina, I., Cvetnić, Ž. (2014a): Assessment of aflatoxin M1 contamination in the milk of four dairy species in Croatia. *Food Control*, 43, 18-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.02.044>
- Bilandžić, N., Božić, D., Dokić, M., Sedak, M., Kolanović, B.S., Varenina, I., Tanković, S., Cvetnić, Ž. (2014b): Seasonal effect on aflatoxin M1 contamination in raw and UHT milk from Croatia. *Food Control*, 40, 260-264.
- Fouché, T., Claassens, S, Maboeta, M. (2020): Aflatoxins in the soil ecosystem: an overview of its occurrence, fate, effects and future perspectives. *Mycotoxin Research*, 36, 303–309. <https://doi.org/10.1007/s12550-020-00393-w>
- Jaime-Garcia, R., Cotty, P.J. (2010): Crop rotation and soil temperature influence the community structure of *Aspergillus flavus* in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 42(10), 1842-1847. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.06.025>
- Jayarathne, W.M.S.C., Abeyratne A.H.M.A.K., De Zoysa H.K.S., Dissanayake D.M.R.B.N., Bamunuarachchige, T.C., Waisundara, V.Y., Chang, S. (2020): Detection and quantification of Aflatoxin B1 in corn and corn-grown soils in the district of Anuradhapura, Sri Lanka. *Heliyon*, 6(10), e05319. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05319>
- Kumar, P., Dipendra, K.M., Kamle, M., Mohanta, T.K., Kang, S.G. (2016): Aflatoxins: A Global Concern for Food Safety, Human Health and Their Management. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2170. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02170>
- Pleadin, J., Vulić, A., Perši, N., Škrivanko, M., Capek, B., Cvetnić, Ž. (2015): Annual and regional variations of aflatoxin B1 levels seen in grains and feed coming from Croatian dairy farms over a 5-year period. *Food Control*, 47, 221-225. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.017>
- Winter, G., Pereg, L. (2019): A review on the relation between soil and mycotoxins: Effect of aflatoxin on field, food and finance. *European Journal of Soil Science*, 70(4), 882-897. <https://doi.org/10.1111/ejss.12813>

Prof.dr.sc. Boris Antunović, dr.vet.med.