



## Moisissures et mycotoxines dans les fourrages

Trevor K. Smith, Ph.D., P.Ag.

Department of Animal and Poultry Science  
University of Guelph, Guelph, Ontario

La venue de ce conférencier a été rendue possible grâce à l'appui financier de



### FAITS SAILLANTS

- Les mycotoxines sont des composés chimiques nocifs produits par des moisissures retrouvées dans le foin, dans l'ensilage et dans les pâturages.
- Les ensilages représentent une source importante de mycotoxines dans les rations des vaches laitières.
- Nourrir les vaches laitières avec des aliments contaminés peut réduire leur immunité et leur utilisation de protéines alimentaires. La réduction des fonctions immunitaires peut réduire de façon significative l'état de santé du troupeau.
- Plusieurs pratiques agronomiques appliquées avant la récolte permettent de réduire la contamination des fourrages par les mycotoxines ainsi que certains traitements chimiques et la gestion appropriée des ensilages et des fourrages lors de leur entreposage.

### INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des composés chimiques nocifs produits par des moisissures (champignons microscopiques) retrouvées dans le sol et qui peuvent proliférer sur la matière végétale incluant les aliments comme les fourrages et les grains. Les mycotoxines peuvent diminuer l'efficacité de production des troupeaux laitiers en réduisant la prise alimentaire, la production de lait et en altérant les fonctions immunitaires de l'animal, rendant le bétail plus susceptible aux infections et aux maladies. Les moisissures qui risquent le plus d'influencer la production laitière au Québec comprennent : *Fusarium*, *Penicillium* et *Aspergillus*.

Les moisissures existent dans le sol et peuvent envahir la matière végétale avant la récolte. Elles peuvent aussi envahir la matière végétale entreposée (foin et ensilage) après la récolte. En présence de conditions favorables, les moisissures vont se développer en utilisant les aliments destinés au bétail comme source d'éléments nutritifs. Par conséquent, la valeur nutritive des aliments endommagés par les moisissures sera diminuée pour les ruminants. Les moisissures présentes dans l'ensilage peuvent être très colorées, notamment *Fusarium* (rouge, blanc, rose), *Mucor* (blanc), *Penicillium* (bleu, vert), *Aspergillus* (jaune, vert) et *Rhizopus* (noir). Cependant, il n'est pas possible de tirer des conclusions définitives par rapport à la toxicité des aliments en se basant sur la couleur des moisissures, puisque certaines d'entre elles vont se chevaucher lorsque plusieurs espèces sont présentes.

Les moisissures peuvent être identifiées et quantifiées à l'aide d'un microscope. Les moisissures sont quantifiées en unités formatrices de colonies (UFC). Cette technique permet de dénombrer les moisissures. Toutefois, il n'est pas possible d'établir de corrélation entre la quantité de moisissures présente dans l'aliment et leur toxicité puisque l'habileté des moisissures à produire des mycotoxines varie selon les différentes souches de moisissures. Un autre indice de détérioration des ensilages est le compte en levures. Similaires aux moisissures, les levures sont des organismes vivants pouvant se développer sur les ensilages, réduisant ainsi la valeur nutritive des aliments pour le bétail. Les levures ne produisent pas de mycotoxines et ne sont pas toxiques en tant que telles. Par contre, la quantité de levures est corrélée avec des indicateurs de performance en production laitière. Ainsi, un nombre élevé de levures entraîne fréquemment une réduction de la teneur en matière grasse dans le lait, probablement attribuable à une réduction du contenu énergétique des ensilages.

Les champignons du genre *Fusarium* prospèrent dans les sols de zone climatique tempérée et sont communs au Québec. Ces moisissures peuvent produire plusieurs variétés de mycotoxines qui ont de nombreux effets sur le troupeau laitier. Les trichotécènes représentent un groupe important de ces composés. Plus de 100 trichotécènes ont été identifiées chimiquement. La plus commune est le DON, aussi connu sous les appellations désoxynivalénol ou vomitoxine. Un effet important des trichotécènes est l'immunosuppression entraînant une susceptibilité accrue des vaches aux maladies, incluant la mammite et la hausse du nombre de cellules somatiques dans le lait.

Les ensilages contiennent surtout les champignons *Fusarium*, *Mucor* et *Penicillium* avec des plus petites quantités d'*Aspergillus* et *Monila*. Les mycotoxines produites par le genre *Penicillium* sont celles qui causent le plus de soucis dans les ensilages et comprennent la toxine PR, la patuline, la citrinine, l'ochratoxine, l'acide mycophénolique et la roquefortine C. Ces composés sont habituellement produits dans des conditions aérobies qui résultent d'une faible compaction initiale des ensilages et d'une gestion de l'alimentation qui est inadéquate. Cependant, on connaît peu de chose sur la toxicité individuelle de la plupart de ces composés dans les troupeaux laitiers. Certains de ces composés, par contre, ont des propriétés antibiotiques. Le problème majeur associé aux aliments de bétail contaminés par ces toxines est la réduction de l'efficacité de la fermentation dans le rumen et de l'utilisation des nutriments par l'animal.

Une autre source potentielle de mycotoxines dans l'alimentation des ruminants provient directement des pâturages, car ces derniers peuvent être contaminés par des alcaloïdes d'ergot (champignon qui parasite les grains de certaines graminées) qui affectent le système nerveux du bétail. Des exemples seraient l'ergovaline et l'ergovalinine. Ces composés réduisent la circulation sanguine vers les tissus périphériques, ce qui peut affecter la reproduction et réduire la production de lait. La nécrose des sabots peut être observée lors de cas sévères. Un autre exemple de mycotoxine des pâturages est la lolitrem B qui peut altérer la démarche entraînant l'hypomagnésémie causée par le ray-grass.

## ANALYSE DES MYCOTOXINES

L'alimentation des ruminants pose un défi majeur en ce qui concerne l'analyse des mycotoxines, en raison de la présence possible des mycotoxines produites par *Fusarium*, qui peuvent contaminer les fourrages en pré-récolte, et à celles produites principalement par les genres *Aspergillus* et *Penicillium*, formées dans les fourrages entreposés. L'analyse la plus sophistiquée effectuée en laboratoire de recherche utilise une combinaison de chromatographie en phase liquide avec deux spectromètres de

masse en tandem (CPL/MS/MS). Même avec un tel degré de raffinement, il n'est possible d'analyser que 50 différentes mycotoxines. Les laboratoires commerciaux offrent la technique d'analyse de chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectrométrie de masse (CPG/MS), la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) et des kits de test rapide ELISA. Les tests ELISA analysent seulement les mycotoxine simples, mais sont moins coûteux et plus rapides que les autres techniques. C'est la méthodologie la plus pratique pour un dépistage rapide dans les fourrages.

Récemment, il a été signalé que certaines mycotoxines existent sous de multiples formes chimiques. Les formes libres de DON, de zéaralénone et de fumonisine sont produites par certaines moisissures mentionnées antérieurement. Il a également été rapporté que ces mycotoxines peuvent également exister sous des formes conjuguées (masquées) (Berthiller *et al.*, 2005). Ces formes modifiées sont produites par les plantes que les champignons envahissent. Elles sont décrites comme « masquées » puisqu'elles ne sont pas détectables par les méthodes analytiques couramment utilisées. Jusqu'à 40 % de DON dans des échantillons de maïs et de blé de l'est du Canada ont été démontrés comme étant sous leur forme « masquée », indiquant que les techniques analytiques courantes pourraient sérieusement sous-estimer la teneur réelle en mycotoxines des fourrages (Tran et Smith, 2011). Cette situation pourrait expliquer pourquoi certains problèmes de production observés ne peuvent être attribués aux mycotoxines, en raison de l'utilisation des procédures analytiques actuelles.

## ÉTUDE DE L'ALIMENTATION

Des expériences décrivant l'impact d'alimenter un troupeau laitier avec des aliments contaminés naturellement ont récemment été présentées. Koresteleva *et al.* (2007, 2009) ont nourri des vaches laitières en mi-lactation avec une ration totale mélangée (RTM) composée d'ensilage, de foin, de maïs et de blé contaminée naturellement pendant 56 jours. Le contaminant majeur observé était DON à une concentration de 3,6 ppm sur une base de matière sèche. Le poids vif, l'évaluation de l'état physique, l'ingestion de matière sèche, le bilan énergétique net, la production de lait, la composition du lait, le décompte des cellules somatiques, la chimie du sérum sanguin, l'hématologie, les concentrations en immunoglobuline du sérum et le profil de coagulation sanguine ont été mesurés dans cette expérience.

La plupart des paramètres n'ont pas été affectés par cette ration. Il y eut, cependant, un déclin significatif des concentrations d'immunoglobuline A (IgA) en circulation chez les vaches qui avaient été nourries avec la RTM contaminée. Des résultats similaires ont été observés dans d'autres expériences où des indicateurs plus spécifiques aux fonctions immunitaires des animaux étaient mesurés. Cette diminution des fonctions immunitaires des bovins est probablement la conséquence la plus importante résultant d'avoir nourri les vaches avec des aliments contaminés par des mycotoxines. Lorsque l'immunité des animaux est compromise, on peut observer des problèmes de santé qui persistent dans le troupeau, des animaux qui ne répondent pas aux médicaments et à l'échec des programmes de vaccination. De plus, ce qui complique le diagnostic est lié au fait que les lésions observées chez les animaux morts de mycotoxicose ne correspondent pas aux lésions classiques attribuables aux mycotoxines. Ce qui est identifié lors de la nécropsie résulte des lésions produites par un organisme infectieux qui tire profit des mécanismes de défense affaiblis de la vache et non les lésions classiques produites par les mycotoxines. Les méthodes de gestion peuvent également affecter le statut immunitaire. Un stress environnemental causera un certain degré de perte d'immunité chez

la vache couplé à la perte d'immunité induite par les mycotoxines. Combinées, ces pertes d'immunité peuvent entraîner la mort du bovin.

Un autre effet identifié à la suite de l'alimentation des vaches avec une RTM contaminée par des mycotoxines a été la hausse marquée des concentrations d'urée dans le sang. L'augmentation en urée dans le sang était imputable à l'effet direct des DON sur la synthèse des protéines par le foie. Lorsque la synthèse protéique du foie est inhibée par des DON, les acides aminés en surplus sont dégradés, ce qui entraîne la hausse des concentrations en urée. Il en résulte une diminution de l'utilisation des protéines alimentaires et une hausse des coûts de production.

## SOLUTIONS

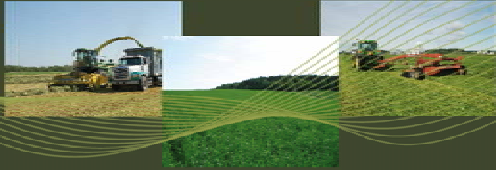
La seule solution complète aux problèmes émergeant de la présence de mycotoxines dans les fourrages est d'éviter de nourrir le bétail avec ces aliments contaminés. Plusieurs stratégies peuvent être appliquées en pré-récolte pour réduire la contamination des fourrages par les mycotoxines. La pratique de semis direct hausse les chances d'hivernage des spores fongiques dans le sol et la contamination potentielle en mycotoxines des cultures suivantes. La rotation des cultures diminue le potentiel de contamination des cultures suivantes. L'utilisation appropriée de fongicides avant la récolte peut assurément minimiser la croissance des champignons. Il y a également des différences génétiques à propos des souches végétales par rapport à leur résistance face à l'invasion des champignons. L'utilisation appropriée des inoculants d'ensilage réduira la croissance des champignons et la production des mycotoxines dans ceux-ci en abaissant le pH, ce qui tuera les spores de moisissures.

## CONCLUSIONS

Donner aux animaux ruminants des aliments contaminés naturellement par des mycotoxines peut réduire de façon significative leur résistance aux maladies et l'état de santé du troupeau. L'utilisation de pratiques agronomiques appropriées avant la récolte et de stratégies de gestion post-récolte peut minimiser la contamination des fourrages par les mycotoxines et ainsi éviter des pertes économiques aux producteurs.

## RÉFÉRENCES

- Berthiller, F., C. Dall'Asta, R. Schuhmacher, M. Lemmens, G. Adam et R. Krska. 2005. *Masked mycotoxins: Determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography – tandem mass spectrometry*. J. Agric. Food Chem. 53: 3421-3425.
- Korosteleva, S.N., T.K. Smith et H.J. Boermans. 2007. *Effects of feedborne Fusarium mycotoxins on the performance, metabolism, and immunity of dairy cows*. J. Dairy Sci. 90: 3867-3873.
- Korosteleva, S.N., T.K. Smith et H.J. Boermand. 2009. *Effects of feed naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on metabolism and immunity of dairy cows*. J. Dairy Sci. 92: 1585-1593.
- Tran, S.T. et T.K. Smith. 2011. *Determination of optimal conditions for hydrolysis of conjugated deoxynivalenol in corn and wheat with trifluoromethanesulfonic acid*. Anim. Feed Sci. Technol. 163: 84-92.



**La venue de ce conférencier a été  
rendue possible grâce à l'appui  
financier de**



**Nutrition, santé, performance ...naturellement**

## Les mycotoxines dans les fourrages

**Trevor K. Smith, Ph.D., P.Ag.,**  
Department of Animal and Poultry Science,  
University of Guelph, Ontario





## INTRODUCTION

- Molds (fungi) are living organisms that thrive in soil.
- If conditions are appropriate, molds will grow and migrate up the stocks of plants.
- Molds grow using the nutrients provided by the host plant.
- This reduces the nutritional value of mold-damaged feeds.



## INTRODUCTION

- The most common molds found in silages include *Fusarium* (red/white/pink), *Mucor* (white), *Penicillium* (blue/green) with lesser amounts of *Aspergillus* (yellow/green), *Rhizopus* (black) and *Monila*.



## INTRODUCTION

- It is possible to identify different types of molds and the amounts of mold (cfu) using a microscope.
- Such mold counts often do not correlate well with actual mycotoxins concentrations in feeds.
- The presence of visible mold indicates a reduction in nutritional value of feeds.



## INTRODUCTION

- The presence of yeasts in dairy feeds is an index of spoilage.
- Yeast do not produce mycotoxins and are not themselves toxic.
- The presence of high amounts of yeast is an indication of reduced nutritional value of the feedstuff.

## INTRODUCTION

- When conditions are appropriate, molds will produce mycotoxins.
- Mycotoxins are harmful molecules that can have a profound negative impact on performance and health of dairy cows.
- In contrast to molds and yeasts, which are living organisms, mycotoxins are stable chemical compounds which are very difficult to destroy.
- Silages will likely be a major source of mycotoxins in dairy feeds .



## INTRODUCTION

- The most commonly found mycotoxins include aflatoxin and the *Fusarium* toxins
- Silages can contain additional *Aspergillus* and *Penicillium* mycotoxins including PR toxin, patulin, citrinin, ochratoxin, mycophenolic acid and roquefortine C
- Little is known about the individual toxicity of most of these compounds in dairy cattle and they can also negatively impact rumen fermentation.





## INTRODUCTION

- A further complication is found in the presence of mycotoxins found in pastures.
- Endophyte infection of pastures can result in ergot alkaloids including ergovaline and ergovalinine as well as numerous less toxic metabolites.
- These cause impaired reproduction and reduced milk production.
- Ergovaline is a peripheral vasoconstrictor.
- Rye grass staggers is caused by lolitrem B and related compounds.



## INTRODUCTION

- Analytical procedures for aflatoxin are well established.



## INTRODUCTION

- **Fusarium** mycotoxins are more difficult to analyze for due to the large number of compounds, with widely varying chemical structures. It is necessary to use DON as a marker compound.



## INTRODUCTION

- The presence of biologically active but non detectable glucose conjugates of DON have been reported in naturally-contaminated corn and wheat from Slovakia.
- The fraction of total DON represented by the glucose conjugate is up to 30%.
- Berthiller et al., 2005. J. Agric. Food Chem. 53: 3421-3425.



## INTRODUCTION

- A more recent report (Zhou et al. 2007. J. Agr. Food. Chem. 55: 10141) indicated that chemical hydrolysis of feed samples before DON measurements resulted in up to an 88% increase in detectable DON in barley from North Dakota, U.S.A.



## INTRODUCTION

- Glucose dimers and trimers of DON have also been described (Zachariasova et al., 2008, Anal. Chim. Acta 625: 77).
- Glucose conjugates of zearalenone and fumonisin have also been reported.



## INTRODUCTION



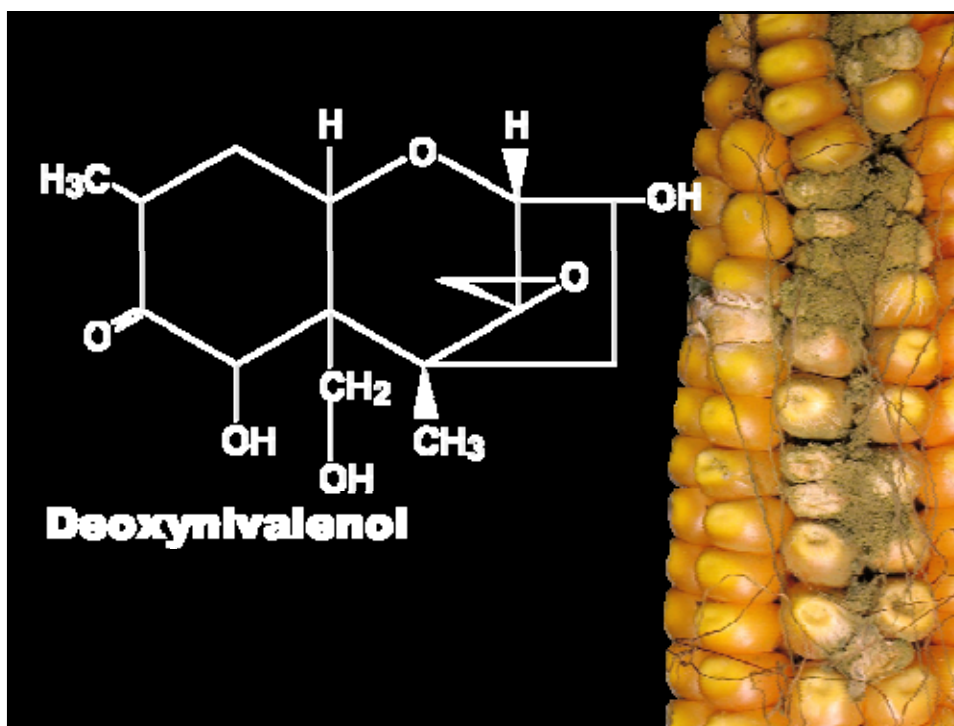
- In our lab, optimal acid hydrolysis conditions have been established for corn and wheat using TFSMA (trifluoromethanesulfonic acid).
- Canadian wheat samples has shown an average increase in DON content following acid hydrolysis of 36.8% (7% - 64%).
- Corn samples had an average increase of 35.5% (17% - 70%).  
Tran and Smith ( 2011) Anim. Feed Sci. Technol. 163: 84-92.



## Fusarium Mycotoxins

- Swine and horses are the most sensitive species.
- Poultry are more resistant but can have altered metabolism and specific lesions.
- Ruminant animals are the most resistant but effects can still be seen on reproduction and milk production.





## The Trichothecenes

- The trichothecenes are a family of more than 100 structurally-related toxins.
- The trichothecenes are feed refusal toxins.
- The most common is deoxynivalenol (DON, vomitoxin).
- The trichothecenes alter brain neurochemistry by increasing tryptophan and serotonin levels.

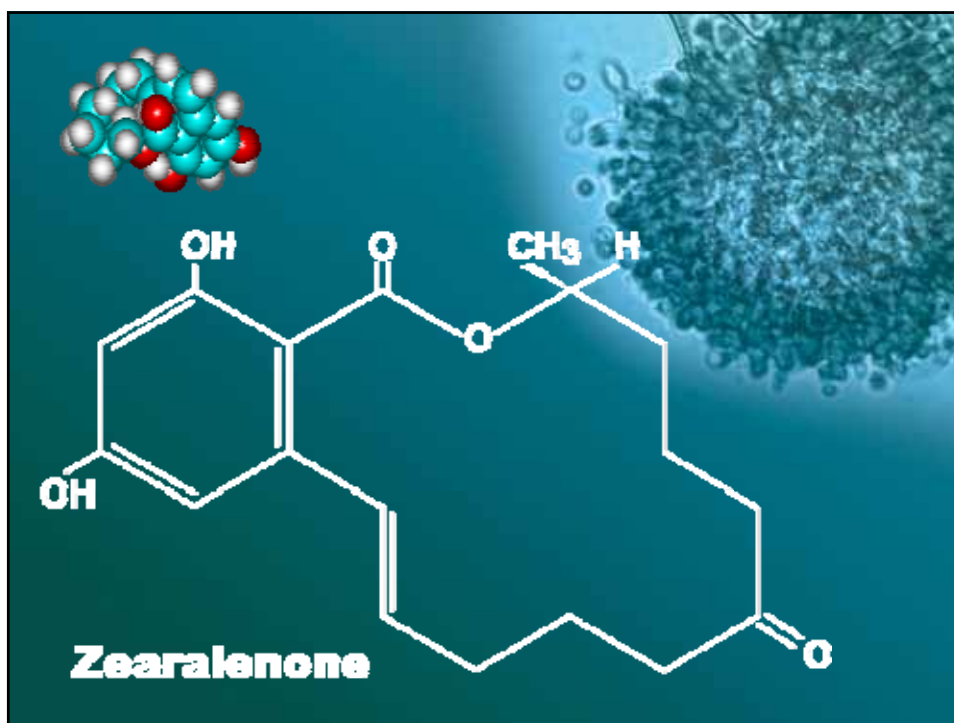


## The Trichothecenes

- The trichothecenes are dermal necrotic agents and inhibit cellular protein synthesis.
- The trichothecenes cause hemorrhaging of the intestinal tract, ulcers, bloody scours and nutrient malabsorption.

## The Trichothecenes

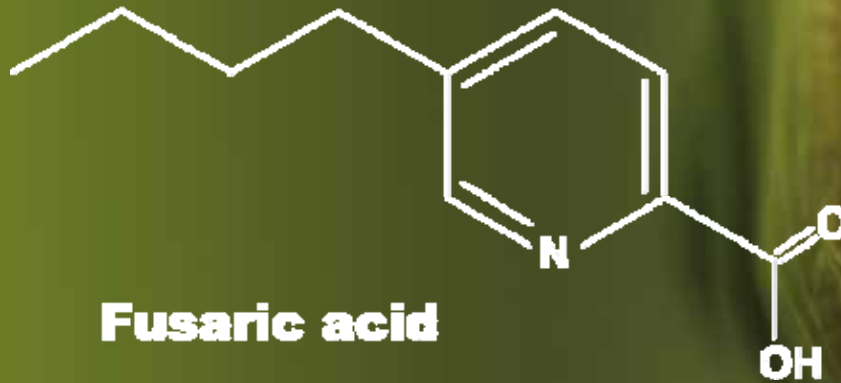
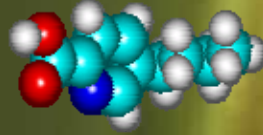
- The trichothecenes are immunosuppressive.
- This makes animals susceptible to secondary mycotoxic diseases.
- This may be due, in part, to the inhibition of immunoglobulin synthesis.



## Zearalenone

- Zearalenone is an estrogenic Fusarium mycotoxin.
- Zearalenone can bind to estrogen binding sites and cause enlargement of the uterus and rectal and vaginal prolapse.
- Zearalenone causes abortions and infertility.

Fusaric Acid  
(5-butylpicolinic acid)



## Fusaric Acid

- Fusaric acid has low acute toxicity but is pharmacologically active.
- Fusaric acid inhibits the enzyme dopamine-beta-hydroxylase which catalyzes the conversion of dopamine to norepinephrine.
- The physiological effect of fusaric acid is a drop in blood pressure which can cause edema and swelling of the udder and feet.

## Fusaric Acid

- Fusaric acid also increases brain concentrations of tryptophan and serotonin.
- Fusaric acid and vomitoxin act synergistically to reduce feed consumption and cause loss of muscle coordination and lethargy.

## STRATEGIES FOR PREVENTING MYCOTOXICOSES

- Avoid monoculture.
- Avoid no till practices.
- Use of fungicides preharvest.
- Use of genetically resistant corn hybrids.
- Use of silage inoculants.
- Use of specialized feed grade enzymes.
- Use of specialized nutritional supplements.



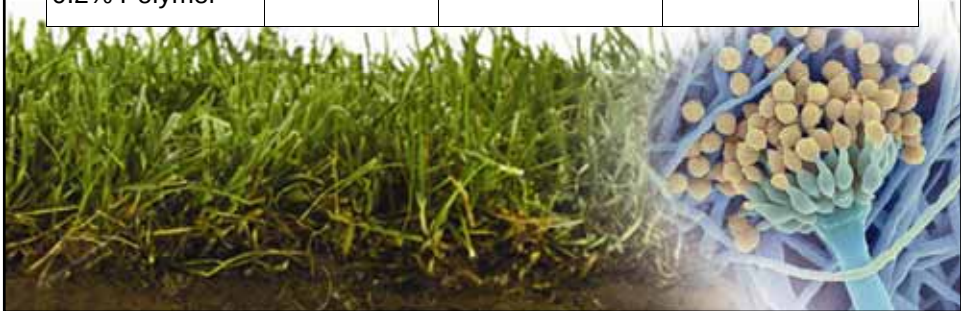


## Effect of feeding *Fusarium* mycotoxin-contaminated feeds to lactating dairy cows

- -18 mid-lactation Holstein dairy cows (6 cows per diet) were fed TMR containing naturally-contaminated hay, silage, corn and wheat with 3.6 ppm DON (dry matter basis) for 56 days.
- -Body weight, milk production, SCC, blood chemistry, hematology and Ig were measured.
- -Koresteleva et al., 2007, J. Dairy Sci. 90: 3867 - 3873.

## Effect of feeding *Fusarium*-mycotoxin contaminated feeds to lactating dairy cows

| Diet           | DM Intake<br>kg/cow/day | Milk Production<br>(kg/cow/day) | SCC<br>(sc/mlx10 <sup>3</sup> )23.8 |
|----------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| Control        | 23.8                    | 30.0                            | 60.0                                |
| Contaminated   | 24.8                    | 31.1                            | 57.8                                |
| Contaminated + | 22.6                    | 31.7                            | 39.4                                |
| 0.2% Polymer   |                         |                                 |                                     |





Effect of feeding *Fusarium*-mycotoxin contaminated feeds to lactating dairy cows

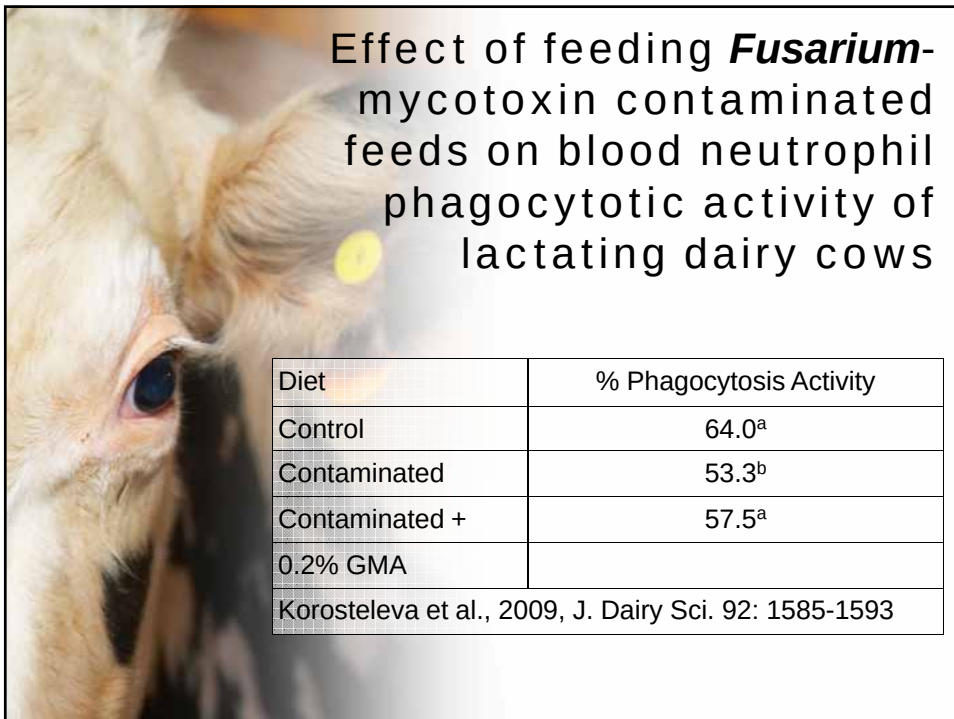
| Diet           | IgA (g/L)         | Urea (mmol/L)    | Globulins (g/L)   |
|----------------|-------------------|------------------|-------------------|
| Control        | 0.35 <sup>a</sup> | 5.3 <sup>a</sup> | 40 <sup>a</sup>   |
| Contaminated   | 0.19 <sup>b</sup> | 6.1 <sup>b</sup> | 49 <sup>b</sup>   |
| Contaminated + | 0.23 <sup>a</sup> | 5.6 <sup>a</sup> | 45 <sup>a,b</sup> |
| 0.2% Polymer   |                   |                  |                   |

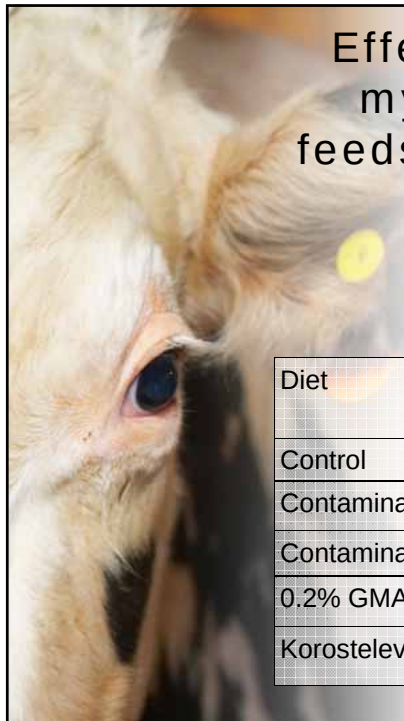


Effect of feeding *Fusarium*-mycotoxin contaminated feeds on blood neutrophil phagocytotic activity of lactating dairy cows

| Diet           | % Phagocytosis Activity |
|----------------|-------------------------|
| Control        | 64.0 <sup>a</sup>       |
| Contaminated   | 53.3 <sup>b</sup>       |
| Contaminated + | 57.5 <sup>a</sup>       |
| 0.2% GMA       |                         |

Korosteleva et al., 2009, J. Dairy Sci. 92: 1585-1593





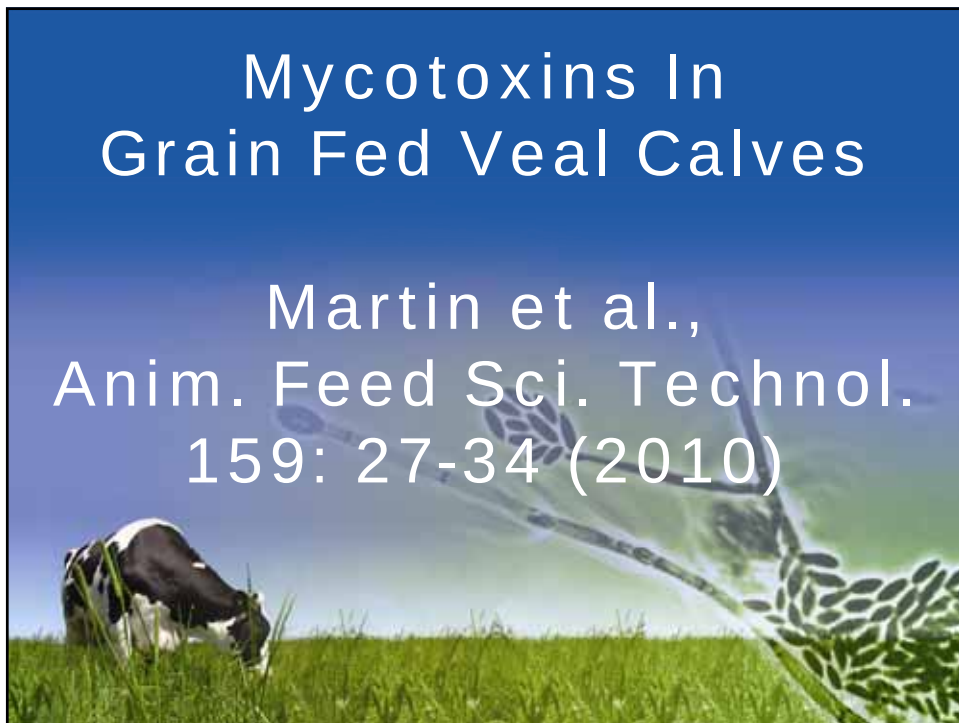
Effect of feeding ***Fusarium***-mycotoxin contaminated feeds on antibody response (OD) to ovalbumin in lactating dairy cows

| Diet           | Primary Response  | Secondary Response |
|----------------|-------------------|--------------------|
| Control        | 0.86 <sup>a</sup> | 1.20               |
| Contaminated   | 1.15 <sup>b</sup> | 1.30               |
| Contaminated + | 1.13 <sup>b</sup> | 1.30               |
| 0.2% GMA       |                   |                    |

Korosteleva et al., 2009, J. Dairy Sci. 92: 1585-1593

## Mycotoxins In Grain Fed Veal Calves

Martin et al.,  
Anim. Feed Sci. Technol.  
159: 27-34 (2010)



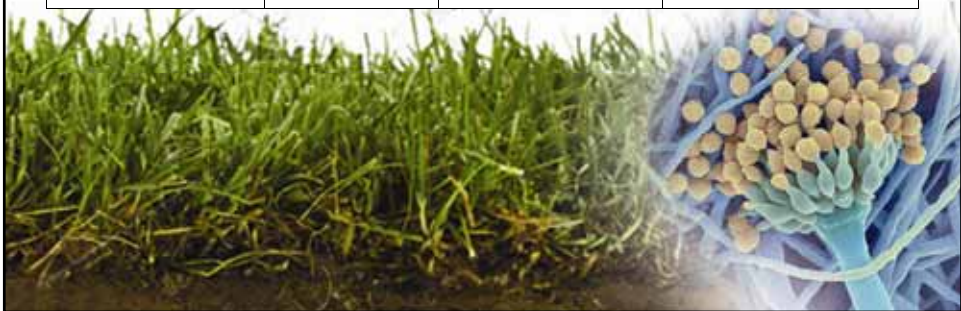


## Effect of feeding *Fusarium* mycotoxin-contaminated corn to veal calves

- -32 grain-fed veal calves (177 kg BW) were fed diets containing naturally-contaminated corn (9 ppm DON )for 84 days.
- -Body weight, blood chemistry, hematology, immunoglobulins and carcass characteristics including hot carcass weight, dressing yield, back fat, and longissimus muscle area were measured.

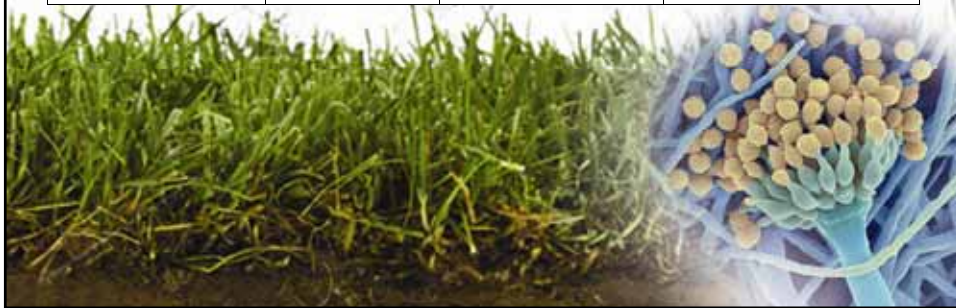
### Effect of feeding *Fusarium*-mycotoxin contaminated feeds to veal calves

| Diet           | Gain (kg) | ADG (kg)          | DM Intake (g/kg)  |
|----------------|-----------|-------------------|-------------------|
| Control        | 140       | 1.61 <sup>a</sup> | 26.6              |
| Contaminated   | 141       | 1.67 <sup>b</sup> | 25.6 <sup>a</sup> |
| Contaminated + | 148       | 1.77 <sup>b</sup> | 26.3 <sup>b</sup> |
| 0.2% Polymer   |           |                   |                   |



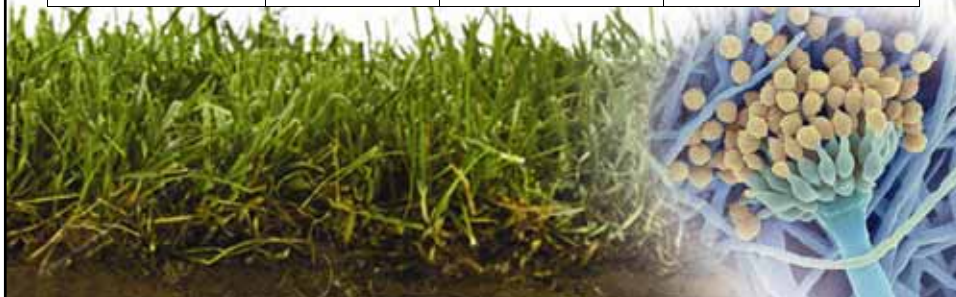
### Effect of feeding *Fusarium*-mycotoxin contaminated feeds to veal calves

| Diet           | IgA (mg/dL) | Urea (mg/dL)        | Glucose (mg/dL)     |
|----------------|-------------|---------------------|---------------------|
| Control        | 19.1        | 9.8 <sup>a</sup>    | 98.6 <sup>a</sup>   |
| Contaminated   | 18.8        | 11.8 <sup>b</sup>   | 94.4 <sup>b</sup>   |
| Contaminated + | 17.6        | 11.6 <sup>a,b</sup> | 95.1 <sup>a,b</sup> |
| 0.2% Polymer   |             |                     |                     |



### Effect of feeding *Fusarium*-mycotoxin contaminated feeds to veal calves

| Diet           | HCW (kg) | BF (mm) | LMA (cm <sup>2</sup> ) |
|----------------|----------|---------|------------------------|
| Control        | 177      | 2.81    | 48.3                   |
| Contaminated   | 171      | 2.11    | 47.2                   |
| Contaminated + | 177      | 3.62    | 48.1                   |
| 0.2% Polymer   |          |         |                        |





# OVERALL CONCLUSIONS

- The feeding of roughages contaminated with mycotoxins can alter metabolism and lower productivity of ruminant animals.
- This can lead to significant financial losses for producers.
- Such losses can often be prevented by the use of appropriate agronomic and dietary strategies.