



Inschatting kans op aflatoxinevorming in Nederlandse ruw- en kuilvoerders voor melkvee

M. Focker, E.D. van Asselt, H.J. van der Fels-Klerx



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

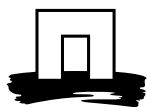
Inschatting kans op aflatoxinevorming in Nederlandse ruw- en kuilvoeders voor melkvee

M. Focker, E.D. van Asselt, H.J. van der Fels-Klerx

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Food Safety Research, instituut binnen de rechtspersoon Stichting Wageningen Research in opdracht van en gefinancierd door de Nederlandse Zuivel Organisatie (NZO).

Wageningen, februari 2022

WFSR-rapport 2022.003



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

Focker, M., E.D. van Asselt, H.J. van der Fels-Klerx, 2022. *Inschatting kans op aflatoxinevorming in Nederlandse ruw- en kuilvoeders voor melkvee*. Wageningen, Wageningen Food Safety Research, WFSR-rapport 2022.003. 34 blz.; 3 fig.; 8 tab.; 123 ref.

Projectnummer: 1217402401

Projecttitel: Inschatting kans op aflatoxinevorming in Nederlandse ruw- en kuilvoeders voor melkvee

Projectleider: Ine van der Fels-Klerx

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/564038> of op <http://www.wur.nl/food-safety-research> (onder WFSR publicaties).

© 2022 Wageningen Food Safety Research, instituut binnen de rechtspersoon Stichting Wageningen Research. Hierna te noemen WFSR.

Het is de opdrachtgever toegestaan dit rapport integraal openbaar te maken en ter inzage te geven aan derden. Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van het WFSR is het niet toegestaan:

- a. *dit door WFSR uitgebrachte rapport gedeeltelijk te publiceren of op andere wijze gedeeltelijk openbaar te maken;*
- b. *dit door WFSR uitgebrachte rapport, c.q. de naam van het rapport of WFSR, geheel of gedeeltelijk te doen gebruiken ten behoeve van het instellen van claims, voor het voeren van gerechtelijke procedures, voor reclame of antireclame en ten behoeve van werving in meer algemene zin;*
- c. *de naam van WFSR te gebruiken in andere zin dan als auteur van dit rapport.*

Postbus 230, 6700 AE Wageningen, T 0317 48 02 56, E info.wfsr@wur.nl, www.wur.nl/food-safety-research.
WFSR is onderdeel van Wageningen University & Research.

WFSR aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

WFSR-rapport 2022.003

Verzendlijst:

- R. de Vries (NZO)
- J. Stark (NZO)

Inhoud

Dankwoord	5
Samenvatting	7
1 Inleiding en doel	9
1.1 Achtergrondinformatie	9
1.2 Project doelstelling	10
2 Methodiek	11
2.1 Literatuur	11
2.2 Data	11
2.3 Modellen	12
3 Resultaten	13
3.1 Gewassen die gevoelig zijn voor besmetting met AFB1 en producerende schimmels	13
3.1.1 De voedingswaarde van gewassen	13
3.1.2 <i>Aspergillus flavus</i> en Aflatoxinen in Europees ruwvoer	13
3.1.3 Conclusie	14
3.2 Condities voor groei en toxinevorming door <i>Aspergillus flavus</i>	16
3.2.1 In het lab	16
3.2.2 In het veld	17
3.2.3 Tijdens de opslag	18
3.2.4 Tijdens het inkuilen	18
3.2.5 Conclusie	18
3.3 Inschatting van de mate waarin gevoelige gewassen in Nederland worden geteeld, evenals mogelijke toekomstige nieuwe gevoelige gewassen	19
3.4 Inschatting van de mate waarin bepaalde meteorologische omstandigheden die gunstig zijn voor aflatoxinevorming in Nederland voorkomen en in de toekomst worden verwacht in Nederland	20
3.4.1 Effect van klimaatverandering op de vorming van AFB1	20
3.4.2 Klimaatverandering	20
3.4.3 Conclusie	22
3.5 Beschrijving van (toekomstige) condities waarbij vorming van AFB1 in Nederlands ruwvoer denkbaar is	23
3.6 Analyse van enkele weerscenario's: is het denkbaar dat aflatoxinevorming voor gaat komen in Nederlands ruwvoer?	24
4 Conclusies	26
Literatuur	27

Dankwoord

Dit onderzoek is uitgevoerd door WFSR in opdracht van en gefinancierd door de Nederlandse Zuivel Organisatie (NZO). R. de Vries (NZO) en J. Stark (NZO) worden hartelijk bedankt voor het meedenken in het onderzoek en het kritisch nalezen van het conceptrapport.

Samenvatting

Aflatoxinen, metabolieten van onder andere de schimmel *Aspergillus flavus*, die gezondheidsschade bij mens en dier kunnen veroorzaken, worden regelmatig aangetroffen op diverse gewassen. Sommige aflatoxinen zijn zeer toxisch voor de mens. Blootstelling aan deze aflatoxinen, zelfs aan lage concentraties, kan op de lange termijn lever- en immuunsysteemproblemen of leverkanker veroorzaken. Aflatoxine B1 (AFB1) is de meest voorkomende aflatoxinevorm in diervoeder- en voedselgewassen. Na inname door koeien, kan AFB1 worden overgedragen aan de melk, in de vorm van AFM1. Aflatoxinen worden met name aangetroffen in warme gebieden, waaronder het Midden-Oosten, Afrika of Zuid-Amerika maar ook in Zuid-Europa. In Nederland worden aflatoxinen tot nu toe alleen aangetroffen in geïmporteerde gewassen. Omdat uit onderzoek blijkt dat de effecten van klimaatverandering zouden kunnen leiden tot een toename in het optreden van aflatoxinen in gewassen, was het doel van dit project om te inventariseren of het voorkomen van aflatoxinen verhoogd zou kunnen zijn in ruwvoer dat momenteel wordt geteeld in Nederland. Tevens is onderzocht of gebruik van andere ruwvoerders (in de toekomst) kan leiden tot AFB1-besmetting. Uit de resultaten blijkt dat AFB1-producerende schimmels een voorkeur hebben voor olie- en suikerrijke producten zoals maïs, maar de groeiomstandigheden, waaronder de temperatuur of de wateractiviteit, zijn belangrijker. AFB1 kan worden gevormd in het veld of tijdens de opslag. Hoge temperaturen, rond de 30°C en een hoge wateractiviteit (aw), rond een aw van 0,99, lijken optimaal voor de groei van AFB1-producerende schimmels tijdens de opslag. In het veld zorgt ook extreme droogte voor een verminderde weerbaarheid, of voor beschadiging van het gewas, waardoor de schimmel kans heeft op het gewas te groeien. Wanneer naar de verwachte gemiddelde dagtemperaturen in 2030 of zelfs 2050 wordt gekeken in Nederland, zijn hoge concentraties aflatoxinen nog steeds niet te verwachten in ruwvoer geteeld in Nederland. Grote veranderingen wat betreft de gewassen die gebruikt zullen worden als ruwvoer voor melkvee zijn niet te verwachten in de nabije toekomst. Het type gewas heeft uiteindelijk ook minder invloed op aflatoxinevorming dan de weersomstandigheden. De opslagomstandigheden van het ruw- of kuilvoer blijven belangrijk. Ruwvoer dient koel en droog bewaard te worden. Kuilvoer moet goed afgedicht worden om schimmelgroei te voorkomen.

De belangrijkste conclusies en aanbevelingen:

- Elk gewas kan besmet raken met aflatoxinen, in het veld of tijdens de opslag; daardoor zijn klimaatveranderingen relevanter voor de productie van aflatoxinen door schimmels /of voor de groei van aflatoxine producerende schimmels dan de teelt van nieuwe gewassen.
- Uit het literatuuronderzoek blijkt dat er geen andere gewassen naar voren komen die gevoeliger zouden zijn voor aflatoxinebesmetting dan (snij)maïs.
- De verwachting voor de komende 10 jaar is dat de kans op besmetting met aflatoxinen, en daardoor ook op overschrijding van wettelijke normen, van gewassen geteeld in Nederland zeer gering blijft en niet anders zal zijn dan het huidige risico.
- Lokaal kunnen zeer droge en warme omstandigheden in de maanden juni tot en met oktober wel leiden tot verhoogde concentraties. Extra monitoring is dan aan te raden.
- In Oost en Zuid-Europa zijn in de komende jaren meer periodes met extreme hitte of droogte te verwachten. Onder die omstandigheden is extra monitoring voor geïmporteerde gewassen uit die gebieden gewenst.
- Koele en droge opslagomstandigheden van ruwvoer en goed kuilmanagement blijven essentieel om de vorming van aflatoxinen te voorkomen.

1 Inleiding en doel

1.1 Achtergrondinformatie

Aflatoxinen zijn mycotoxinen, natuurlijke toxines gevormd door de schimmels *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* en *Aspergillus nomius* [1]. Deze schimmels groeien op gewassen en vormen mycotoxinen, die de schimmel een concurrentievoordeel ten opzichte van andere schimmels opleveren. Onder stressomstandigheden neemt de behoefte aan concurrentievoordeel toe en dit is het moment waarop mycotoxinen gevormd worden [2]. Meerdere aflatoxinevormen komen in de natuur voor, maar de meest toxische voor mens en dier zijn de vormen B1, B2, G1 en G2. Aflatoxine B1 (AFB1) komt het meeste voor in voeder en voedselgewassen. Blootstelling aan aflatoxinen, zelfs aan lage concentraties, kan op de lange termijn lever- en immuunsysteemproblemen of leverkanker veroorzaken [3]. Om de bevolking te beschermen tegen de consequenties van aflatoxinen zijn er in de Europese Unie (EU) grenswaarden of richtlijnen voor levensmiddelen en diervoeder gespecificeerd. Verordening (EG) 1831/2003 stelt de grenswaarden voor granen en van granen afgeleide producten, bestemd voor rechtstreekse menselijke consumptie of als ingrediënt in levensmiddelen, op 2 µg/kg voor AFB1 en op 4 µg/kg voor het totaal aflatoxinegehalte (B1, B2, G1 en G2). Richtlijn 2002/32/EG zet de maximumlimiet (ML) voor AFB1 in voedermiddelen op 50 µg/kg, met een aantal uitzonderingen waaronder de limiet van 20 µg/kg voor mais en mais-producten en de limiet van 5 µg/kg voor volledige en aanvullende diervoeders voor melkvee.

Aflatoxinen zijn de meest relevante mycotoxinen voor de zuivelketen, omdat AFB1 wordt overgedragen naar de melk, als aflatoxine M1 (AFM1). Aflatoxine M1 is een metaboliet van AFB1 en wordt gevormd wanneer melkvee AFB1-besmet voer eet. AFM1 wordt in het lichaam van de koe gevormd en wordt deels in de melk uitgescheiden. De overdracht van diervoeder naar melk is ongeveer 6% [4]. AFM1 wordt door de pasteurisatie of sterilisatie niet geïnactiveerd en dus moet contaminatie worden voorkomen [5]. AFM1 is dan wel minder toxisch dan AFB1, maar omdat melk en melkproducten in relatief grote hoeveelheden worden geconsumeerd, vooral door jonge kinderen, is een ML van 0,05 µg/kg gesteld voor rauwe melk, warmte behandelde melk en melk voor producten op basis van melk en een ML van 0,025 µg/kg voor zuigelingenvoeding (Verordening (EG) 1831/2003).

Voer voor melkvee wordt onderscheiden in ruwvoeders en krachtvoeders. Ruwvoeders zijn voedermiddelen met een vezellengte van ongeveer 8 mm. Voorbeelden van ruwvoeders zijn gras(kuil), hooi, luzerne, of snijmaïs(kuil). Deze producten worden als zodanig aan melkvee gevoerd [6]. Krachtvoer is voer met een hogere energiewaarde dan ruwvoeders per kilo droge stof en is vaak een samenstelling van verschillende grondstoffen zoals granen, soja, citrus, palmpit, koolzaad, bieten, of resten uit de voedingsmiddelenindustrie (mengvoer).

Recent bewijs suggereert dat de grootste blootstelling bij koeien aan bepaalde gereguleerde mycotoxinen (deoxynivalenone, zearalenone, aflatoxinen) door besmet ruwvoer zou komen, al is dit aspect nog onvoldoende onderzocht. Met name gepubliceerde artikelen waarin onderzoekers de aanwezigheid van mycotoxinen in hooi en kuilvoer hebben onderzocht, zijn zeer beperkt in vergelijking met artikelen die de aanwezigheid van mycotoxinen in granen onderzoeken [7, 8]. Krachtvoer wordt goed gecontroleerd door de diervoederindustrie, zoals door SecureFeed. Daarentegen valt ruwvoer niet onder de reguliere controle door de diervoederindustrie, aangezien dit meestal zelf wordt geteeld door melkveehouders, of aangekocht uit de buurt.

Hoge concentraties aflatoxinen en met name AFB1 zijn aangetroffen in diervoedergrondstoffen in met name de warmere landen, zoals het Midden-Oosten, Zuid-Amerika en Afrika. In Turkije was bijvoorbeeld 96% van de onderzochte maïs(kuil) monsters besmet met AFB1, in Pakistan was 97% van de onderzochte kuilvoermonters besmet met AFB1 en in Mexico was 100% van de onderzochte maïs(kuil), alfalfa-, gras- en sorghummonsters besmet met AFB1 [9-13]. Tot nu toe zijn er geen aanwijzingen voor hoge concentraties aflatoxinen in Nederlands ruwvoer. Echter, door klimaatveranderingen worden aflatoxinen de laatste 10 jaar

steeds vaker in Zuid-Europa aangetroffen en zouden aflatoxinen wellicht ook in Nederland voor kunnen komen. Ook het gebruik van nieuwe gewassen als ruwvoer zou een risicofactor kunnen zijn. *Aspergillus flavus* is de meest voorkomende aflatoxine producerende schimmel in Europese gewassen die gebruikt worden als ruwvoer en/of kuilvoer. De focus van dit rapport zal dus ook op *Aspergillus flavus* liggen.

1.2 Project doelstelling

Het doel van dit project is om te inventariseren of aflatoxinen op termijn een risico zouden kunnen vormen in ruwvoer en kuilvoer in Nederland door a) verhoogd voorkomen van AFB1 in huidige ruwvoerders en/of b) gebruik van andere ruwvoerders die gevoeliger zijn voor AFB1-besmetting. Deze projectdoelstelling is vertaald naar de volgende subdoelen:

1. Het maken van een inventarisatie van de gevoelige gewassen voor besmetting met schimmels en aflatoxinen.
2. Het in kaart brengen van de groeicondities voor *Aspergillus* spp. en de vorming van aflatoxinen.
3. Het maken van een inschatting van de mate waarin gevoelige gewassen momenteel in Nederland worden geteeld.
4. Het beschrijven van de meteorologische omstandigheden die gunstig zijn voor schimmels en de productie van AFB1 in Nederland, zowel nu als in de toekomst.
5. Het beschrijven van de (toekomstige) condities waarbij de vorming van aflatoxinen in Nederlands ruwvoer denkbaar is.
6. Het analyseren van een paar scenario's om in te schatten of het denkbaar is dat aflatoxinevorming voor gaat komen in Nederlands ruwvoer.

2 Methodiek

2.1 Literatuur

De eerste drie onderzoeksvragen (zie 1.2) werden beantwoord aan de hand van een literatuuronderzoek. De database Scopus is hiervoor gebruikt.

Twee combinaties van zoektermen zijn gebruikt om data te verzamelen:

- 1 (aflatoxin OR AFB1)
AND
(flavus)
AND
(field OR storage OR condition* OR nutrient*)
AND
(growth)
AND NOT
(inhibit* OR biocontrol)
- 2 (aflatoxin* OR AFB1)
AND
(roughage OR forage OR hay OR silage)
AND NOT
(milk OR inhibit*)

Deze zoektermen leidden tot respectievelijk 368 en 163 referenties, waaronder 31 dubbele referenties. Extra referenties uit de referentielijsten van relevante artikelen zijn toegevoegd. Deze referenties werden verder ingedeeld in groepen (Tabel 1).

Tabel 1 Literatuuronderzoek - referenties.

Groep	Referenties	Extra	Totaal
De invloed van de samenstelling van het gewas op <i>A. flavus</i> en AFB1	14	0	14
<i>A. flavus</i> en/of AFB1 in ruw- en kuilvoer in Europa	18	8	26
<i>A. flavus</i> en/of AFB1 in ruw- en kuilvoer buiten Europa:	26	13	39
<i>A. flavus</i> en AFB1 in het lab (externe abiotische factoren)	41	0	41
<i>A. flavus</i> en AFB1 tijdens de opslag	8	6	14
<i>A. flavus</i> en AFB1 in kuilvoer	12	5	17
<i>A. flavus</i> en AFB1 in het veld	2	8	10
Klimaatverandering	9	0	9

2.2 Data

De inschatting van de mate waarin bepaalde meteorologische omstandigheden die gunstig zijn voor aflatoxinevorming in Nederland voorkomen en in de toekomst worden verwacht in Nederland werden bepaald aan de hand van rapporten van het IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), het KNMI (Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut) en het STOWA (Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer). Het IPCC is het orgaan van de Verenigde Naties voor de beoordeling van de wetenschap met betrekking tot klimaatverandering. Het IPCC publiceert om de paar jaar een verslag dat de stand van zaken rondom klimaatverandering samenvat. Het laatste rapport uit 2021, met name de data met betrekking tot de

voorspelde temperatuur en regenval, is gebruikt om te bepalen of de toekomstige meteorologische omstandigheden gunstig kunnen zijn voor aflatoxinevorming in gewassen in Nederland. Het KNMI beschikt over data met betrekking tot de maandelijkse temperaturen van de afgelopen jaren en voorspellingen voor de toekomst. Deze voorspellingen zijn gemaakt aan de hand van vier klimaatscenario's. Het STOWA voorspelt de regenval in de toekomst. Ook deze informatie is meegenomen.

2.3 Modellen

Op basis van de groeiomstandigheden zoals vastgesteld in 3.2 en de weersgegevens zoals beschreven in 3.4 is een schatting gemaakt van de mate waarin AFB1 in Nederlands ruwvoer voor kan komen (3.5). Hiervoor is een door WFSR eerder ontwikkeld model gebruikt [14]. Dit model gebruikt als input het weer: de temperatuur, de regenval, de luchtvochtigheid en de windsnelheid en voorspelt daarmee de kans op AFB1 boven een gestelde limiet tijdens de oogst. Dit model is voortgekomen uit een EU-project met Servië (MyToolBox: <https://www.mytoolbox.eu/>) en is daarom gebaseerd op AFB1-data uit Servië. Omdat vergelijkbare data niet beschikbaar is voor Nederland, hebben we dan ook voor dit onderzoek de aanname gemaakt dat dit model direct toepasbaar is voor Nederland. Omdat *A. flavus* in Servië, in tegenstelling tot Nederland, vaak is gevonden in de bodem, overschat het model waarschijnlijk de kans op AFB1 in Nederland. Ook is aangenomen dat maïs overal in Nederland kan groeien.

3 Resultaten

3.1 Gewassen die gevoelig zijn voor besmetting met AFB1 en producerende schimmels

3.1.1 De voedingswaarde van gewassen

Aspergillus flavus is een opportunistische schimmel die verschillende gewassen kan infecteren. De schimmelgroei en vorming van aflatoxinen wordt mede bepaald door de beschikbare voedingstoffen in het gewas. Verschillende voedingssubstraten hebben verschillende effecten op de vorming van AFB1. Hoe gevoelig een gewas is voor aflatoxinebesmetting is dus, onder andere, afhankelijk van de samenstelling van het gewas wat betreft eiwitten, suikers en vetten. Verschillende studies meten hogere AFB1-concentraties in volvette substraten dan in de ontvette substraten. Zo zijn lagere concentraties van *A. flavus* en AFB1-besmetting gemeten in ontvette pinda-, sojabonen-, maïs-, tarwe-, maïskiem- en maïs-endospermsubstraten dan wanneer maïsolie aan dezelfde substraten werd toegevoegd [15]. Een andere studie concludeerde dat het totale vetgehalte de vorming van AFB1 in katoenzaden positief beïnvloedt [16]. Hoewel vetten de AFB1-biosynthese ondersteunen, spelen ook andere voedingsstoffen een belangrijke rol. Oplosbare suikers, bestaande uit één of twee suikermoleculen, zoals fructose, maltose, of glucose, hebben invloed op de schimmelgroei en vorming van AFB1. Een hogere concentratie oplosbare suikers zorgt voor meer vorming van AFB1 [15]. Meer zetmeel, ketens van meerdere suikermoleculen, lijken daarentegen de productie van AFB1 niet te bevorderen [15]. Graankorrels, maïskorrels, pinda's, noten of gedroogd fruit bevatten relatief hoge concentraties vetten en/of suikers en zijn dus ook extra gevoelig voor AFB1-besmetting [17, 18].

De Europese voedselveiligheidsautoriteit, EFSA, heeft door de jaren heen veel data verzameld over het optreden van aflatoxinen in verschillende groepen levensmiddelen en -ingredienten. Aflatoxinen zijn in alle groepen producten gemeten. De hoogste concentraties zijn gevonden in granen en graan-gebaseerde producten, vruchtdragende groenten, gedroogde peulvruchten en bonen, noten, zaden, fruit en jam [19]. Dit laat ook weer zien dat aflatoxineproducerende schimmels opportunistisch zijn, ze niet enkel één gewas besmetten, maar ze wel een voorkeur hebben voor producten met hoge vet- of suikergehaltes.

Om het gewas te kunnen infecteren dienen de schimmels wel toegang te hebben tot de voedingsstoffen. Ze komen daarom veel voor op beschadigde gewassen, ontstaan door extreme droogte, insecten of knaagdieren. Een studie naar peulvruchten liet zien dat een lange periode zonder regen kan leiden tot droogtestress, waardoor spanningen op de peulen en zaadhuiden ontstaan die als toegangspunten voor schimmels kunnen dienen. Ook na hevige regenval kunnen peulvruchten te maken krijgen met verzwakking van de peul en de zaadhuid als gevolg van overmatig vocht. Dit zou het gewas ook zeer vatbaar kunnen maken voor schimmelaantasting [20].

3.1.2 *Aspergillus flavus* en Aflatoxinen in Europees ruwvoer

Aflatoxinen zijn gemeten in een reeks veevoeders, waaronder krachtvoer, hooi, stro en kuilvoer [21]. Hieronder volgt een overzicht van aflatoxinen aangetroffen in divers ruw- en kuilvoer.

3.1.2.1 Ruwvoer (exclusief kuilvoer)

AFB1 is gemeten in snijmaïsmonsters afkomstig uit Nederland, Duitsland, België, of Frankrijk. Voor deze landen werd AFB1 gevonden in 10, 13, 0, 12 en 17% van de maïskuilmonsters, in respectievelijk 2003, 2004, 2005, 2006 en 2007. De hoogste concentraties zijn gemeten in 2004, met een gemiddelde concentratie van 0,8 µg/kg en een maximumconcentratie van 18 µg/kg en in 2007 met een gemiddelde concentratie van 0,8 µg/kg en een maximumconcentratie van 8,8 µg/kg [22]. Tijdens een kleinschalige, meerjarige veldstudie in Nederland, is AFB1 niet aangetroffen in snijmaïsmonsters net na de oogst, tussen 2003 en 2007 [22]. In Frankrijk is AFB1 gemeten in snijmaïs met concentraties tussen de 4 – 34 µg/kg [23, 24]. In Spanje is AFB1

gemeten in 44% van de stromonsters met concentraties tot 4,7 µg/kg [25]. AFB1 is gemeten in 50% van de hooimonsters uit Spanje met lage concentraties tot 1,5 µg/kg [25]. Een aantal studies uit het Verenigd Koninkrijk, Griekenland en Servië vonden geen AFB1 in hooi [26-28]. AFB1 is ook niet gevonden in gras in Tsjechië [29].

3.1.2.2 Kuilvoer

AFB1 is aangetroffen in 61% van de maïskuilmonsters uit Spanje met concentraties tussen de 0,21 en 4,66 µg/kg [25]. In Servië werd in 75% van de maïskuilmonsters AFB1 aangetroffen met concentraties boven de 5 µg/kg [30]. Aflatoxinen werden ook in maïskuilmonsters in Litouwen aangetroffen met een gemiddelde AFB1-concentratie van 14 µg/kg. In graskuilmonsters werd AFB1 gemeten in 28% van de monsters in Spanje tussen 2016 en 2018 (maximaal 1,94 µg/kg) [25]. Aflatoxinen zijn ook gemeten in graskuilmalen in Litouwen met een gemiddelde concentratie van 7,7 µg/kg en in graskuilsleuven met een gemiddelde concentratie van 11,5 µg/kg [31]. In Tsjechië zijn aflatoxinen gemeten in 56% kuilmonsters (snijmaïs, klaver, gras, luzerne, granen) [32]. In klaverkuilmalen in Litouwen werden aflatoxinen gemeten met een gemiddelde concentratie van 11,5 µg/kg [31]. AFB1 is ook aangetroffen in Spanje in 17% haverkuilmonsters [25]. Verschillende onderzoekers identificeren de maïskuil als het diervoederproduct waarin aflatoxinen het meest/vaakst voorkomen [33].

Een samenvatting van de studies uitgevoerd in Europa met het voorkomen van aflatoxinen in kuilvoermonsters is te vinden in Tabel 2.

3.1.3 Conclusie

A. flavus is een opportunistische schimmel en kan op meerdere gewassen groeien en AFB1 vormen. Energierijke producten, met hoge vet- en suikergehalten, waaronder maïs(kuil), zijn gevoelig voor besmetting met *A. flavus*. De groeiomstandigheden, waaronder de temperatuur en de aw, zijn echter belangrijker. Zo kan in principe ieder gewas besmet raken met schimmels en AFB1, mits de groeiomstandigheden voor schimmelvorming en AFB1-productie gunstig zijn. Verschillende studies laten zien dat aflatoxinen zowel in ruwvoer (0-54%) als in kuilvoer (0-61%) kunnen voorkomen en zowel in maïskuil, graankuil, als in graskuil. AFB1-concentraties blijven in de meeste gevallen onder de toegestane limieten. De opslagomstandigheden blijven belangrijk. De externe factoren zoals de weer- en opslagomstandigheden worden verder beschreven in 3.2.

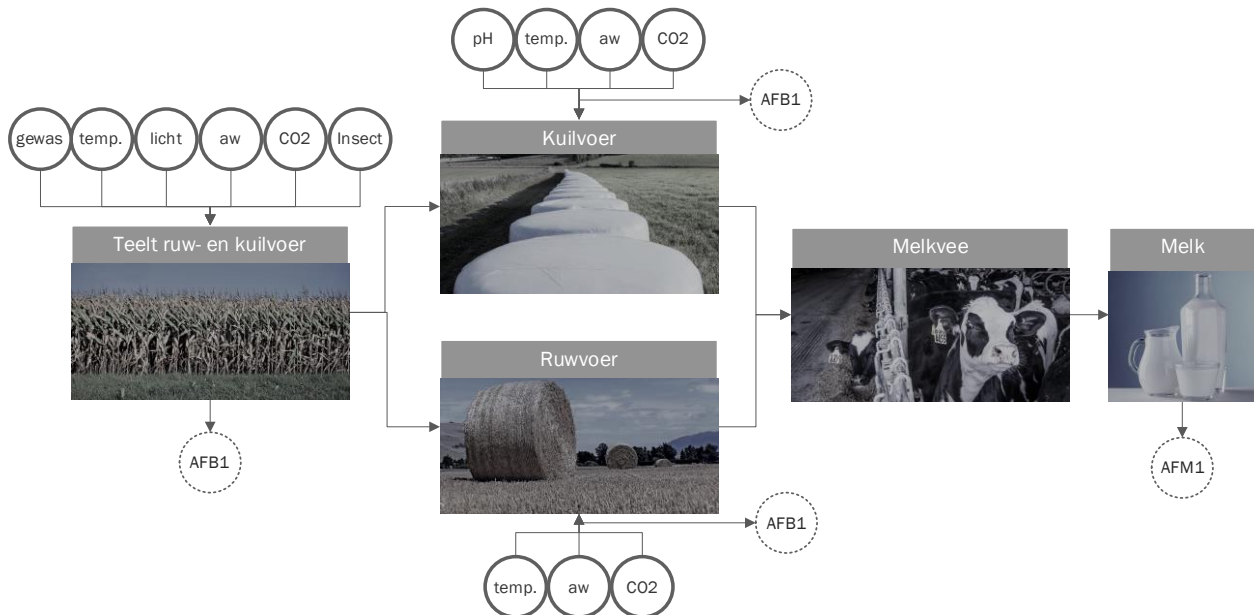
Tabel 2 Voorkomen van AFB1 in Europa.

Grondstof	Prevalentie	Concentratie (µg/kg)	Land	Jaren	Referenties
Ruwvoer					
Snijmaïs	0%		NL	2003 - 2007	[22]
	0 - 17%	0,2 - 18	NL, BE, DE, FR	2003 - 2007	[22]
	NA	4 - 34	FR	2011	[24, 34, 35]
Gras hooi	0%		UK		[26]
	0%		GR	2013	[27]
	0%		RS	2013	[28]
	50%	0,25 - 1,47	ES	2016 - 2018	[25]
	NA	2,85	IT	1995 - 1998	[36]
Luzerne hooi	NA	1,33	IT	1995 - 1998	[36]
Gras vers	0%		CZ	2010	[29]
Stro graan	44%	0,14 - 4,66	ES	2016 - 2018	[25]
Suikerbietpulp	0%		RS	2013	[28]
	17%	0,27 - 0,98	ES	2016 - 2018	[25]
Katoenzaad	54%	18 - 167	GR	2013	[27]
	11%	0,98 - 1,04	ES	2016 - 2018	[25]
Kuilvoer					
Maïskuil	0%		NL	2008	[37, 38]
	0%		FR	2011	[24, 34, 35]
	0%		DE	2019	[39]
	NA	12 - 16*	LT	2008 - 2009	[31]
	61%	0,21 - 4,66	ES	2016 - 2018	[25]
	0%		CZ	2015	[40]
	0%		GR	2013	[27]
	75%	3,5 - 44	RS	2017	[30]
	0%		RS	2013	[28]
	0%		PL	2015	[41]
Graskuil	0%		NL	2008	[37, 38]
	NA	5,3 - 40*	LT	2008 - 2009	[31]
	28%	0,14 - 1,94	ES	2016 - 2018	[25]
	0%		CZ	2010	[29]
Suikerbietenpulp	0%		FR	2011	[42]
Graankuil (tarwe, haver, gerst)	17%	0,25 - 1,47	ES	2016 - 2018	[25]
Kuilvoer mix (maïs, gras, granen)	56%	NA	CZ	2015	[32, 40]

* AFT.

3.2 Condities voor groei en toxinevorming door *Aspergillus flavus*

Drie stappen zijn belangrijk voor de vorming van AFB1: de teelt van het gewas in het veld, het eventuele inkuilen van het gewas en de opslag van ruwvoer of kuilvoer. De benodigde groeicondities in het lab, in het veld, tijdens het inkuilen en tijdens de opslag zijn beschreven in respectievelijk 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3 en 3.2.4.



Figuur 1 AFB1 in ruw- en kuilvoer voor melkvee.

3.2.1 In het lab

Afhankelijk van de schimmelsoort zijn verschillende temperaturen en wateractiviteit (aw) vermeldt in de literatuur als benodigde groeicondities voor AFB1-producerende schimmels en voor de vorming van AFB1 door deze schimmels. De aw is een maat voor de hoeveelheid vrij water dat aanwezig is in het gewas. Maïskuil heeft bijvoorbeeld een aw tussen de 0,90 en 0,99 [43, 44], terwijl gedroogde granen, een aw van ongeveer 0,70 hebben [45]. Tabel 3 toont de optimale groeicondities voor *A. flavus* wat betreft de temperatuur en de aw. De optimale temperatuur ligt tussen de 28 en 37°C, de minimale temperatuur ligt tussen de 10 en 20°C en de maximale temperatuur ligt tussen de 40 en 48°C. *A. flavus*, met een vermelde tolerantielimiet tot 48°C, heeft een opmerkelijk hoge hittetolerantie in vergelijking met andere schimmels. Tabel 4 toont de optimale condities voor de vorming van AFB1. De optimale temperatuur voor de vorming van AFB1 ligt tussen de 24 en 35°C, de minimumtemperatuur ligt tussen de 15 en 20°C en de maximale temperatuur ligt tussen de 35 en 40°C. Wat betreft de aw, geldt in het algemeen, voor zowel de groei van *A. flavus* als de vorming van AFB1: hoe hoger de aw, hoe beter schimmels zich kunnen ontwikkelen. Over het algemeen is aangetoond dat de temperatuur- en aw-omstandigheden voor ontkieming van de sporen breder zijn dan die voor groei en de vorming van mycotoxinen [46]. De relaties tussen de temperatuur en de aw zijn ook belangrijk. Afhankelijk van de aw, is de groei bij verschillende temperaturen optimaal.

De meeste studies meten het effect van de temperatuur en de aw op de groei van *A. flavus* en de vorming van aflatoxinen. Het effect van CO₂ op de groei van *A. flavus* of de vorming van aflatoxinen is weinig onderzocht. CO₂-gehaltes van 650 of 1000 ppm leiden tot meer vorming van AFB1 bij hoge temperaturen (37°C) ten opzichte van 350 ppm CO₂. Dit effect is niet gemeten voor temperaturen onder de 37°C en is ook weer afhankelijk van de aw [47]. Meer CO₂ leidt dus niet direct tot meer AFB1. Verder moet de pH ook binnen een bepaalde range zijn, al is de pH vaak geen beperkende factor [48, 49]. Ook de invloed van licht en aw op de groei van *A. flavus* en *A. parasiticus* en de vorming van aflatoxinen is onderzocht. Licht met een

golflente tussen de 455 en 470 nm alleen maar vooral in combinatie met een lagere wateractiviteit, (onder de 0,95) leidt tot een significante vermindering van de groei en vorming van aflatoxine [50].

De verschillende temperaturen vermeld in Tabellen 3 en 4, zijn onder andere te danken aan de schimmelstam, de voedingswaarde van het substraat en aan factoren die niet in alle studies gemeten zijn, zoals de pH-waarde, de lichtintensiteit, of de CO₂-gehalte.

Tabel 3 Benodigde groeicondities voor *A. flavus*.

	Temperatuur (°C)	Wateractiviteit (aw)	Referenties
Optimaal	28 – 37	0,96 – 0,99	[8, 46, 51-77]
Minimum	10 – 20	0,80 – 0,90	
Maximum	40 – 48	0,99	

Tabel 4 Benodigde condities voor de vorming van AFB1 door *A. flavus*.

	Temperatuur (°C)	Wateractiviteit (aw)	Referenties
Optimaal	24 – 35	0,90 – 0,99	[46, 51, 54, 67, 69-76, 78-88]
Minimum	8 – 20	0,73 – 0,90	
Maximum	35 – 40	0,99	

3.2.2 In het veld

De aanwezigheid van *A. flavus* in het veld is afhankelijk van intrinsieke factoren van het gewas (voedingswaarde, rijpheidsstadium, mechanische beschadiging), omgevingsfactoren (vocht, aw, temperatuur), chemische factoren (zuurstof, samenstelling van het substraat, pesticiden en schimmels) en biologische factoren (plantensoort, stress, insecten zoals de Europese maïsboorder, sporenbelasting) [89]. De bloei markeert de overgang van de vegetatieve naar de generatieve fase. Vanaf dit moment hebben de diverse genoemde stressfactoren de meeste invloed op de infectie van het gewas met *A. flavus* [90].

A. flavus overleeft in de bodem of in plantenresten als mycelia of sporen. Algemeen wordt aangenomen dat *A. flavus* alom aanwezig is in de omgeving. Dit is, voor zover bekend, niet aangetoond voor Nederland. Sporen worden verspreid door de wind. De verspreidingsnelheid is negatief gecorreleerd aan de luchtvochtigheid. Zo is er geen verspreiding op regenachtige dagen of wanneer de luchtvochtigheid hoger dan 80% is. Het ontkiemen van de sporen wordt voornamelijk beïnvloed door de temperatuur en aw, deze is optimaal bij hoge temperaturen (boven de 30°C) [66].

Kolonisatie van de graankorrels neemt gedurende het seizoen toe en is afhankelijk van de temperatuur en de aw maar ook van korrelschade door insecten zoals de Europese maïsboorder [67].

Met name de weersomstandigheden rond de bloei van het gewas en net voor de oogst zijn bepalend voor het risico op aflatoxinevorming [14]. Bij hoge temperaturen en droogte wordt *A. flavus* de dominante ziekteverwekker in maïs. Mycotoxinen, waaronder aflatoxinen, worden gevormd als reactie op veranderingen in de omgeving, meestal als gevolg van stressomstandigheden. Mycotoxinen leveren een concurrentievoordeel voor de schimmel op, wat belangrijk is onder stressomstandigheden [67]. Hoewel de groei van *A. flavus* suboptimaal is boven 40°C in het lab, resulteert deze hoge temperatuur toch vaak tot hoge concentraties aflatoxinen in het veld [91]. Boven de 32°C vermindert de capaciteit voor plantengroei en de afweer van de plant waardoor *A. flavus* makkelijk kan groeien en AFB1-produceren [21, 92]. Een late oogst resulteert vaak in een verhoogde besmetting omdat *A. flavus* aflatoxinen vormt totdat de vochtigheid van de maïskorrels daalt tot 14% [67].

Het is echter essentieel op te merken dat de genoemde factoren niet geïsoleerd werken; ze werken samen met intrinsieke eigenschappen van planten om schimmelinvasie en toxineproductie mogelijk te maken [93].

3.2.3 Tijdens de opslag

Tijdens de opslag kan *A. flavus* verder groeien en eventueel AFB1 vormen. De temperatuur, de aw van de gewassen wanneer ze worden opgeslagen, de aw tijdens de opslag en het CO₂-gehalte hebben allemaal invloed op de fysiologische processen van schimmels [8, 48, 94, 95]. Alleen een verhoogde temperatuur, droogtestress, of een verhoogde CO₂ heeft geen significant effect op de groei van *A. flavus*. Daarentegen de combinatie van een hogere temperatuur, vochtige omstandigheden en een verhoogd CO₂-gehalte heeft wel een stimulerend effect op de groei van *A. flavus* en vooral op de vorming van AFB1 [46, 95]. Bij een lagere wateractiviteit (0,99 → 0,91) was de AFB1-productie het hoogst bij 37°C. Omgekeerd was de AFB1-productie bij hoge wateractiviteit (0,99) het hoogst bij 30°C in opgeslagen maïskorrels [48]. Diverse modellen, gebaseerd op de temperatuur, de aw en eventueel de CO₂, zijn ontwikkeld om de groei van *Aspergillus* spp. en de vorming van aflatoxinen te voorspellen tijdens de opslag van gewassen zoals maïskorrels, pistachenoten, rijst, koffiebonen, of pinda's [48, 49, 70, 76, 96-99]. Modellen voor *A. flavus* in ruwvoer zijn niet beschikbaar.

3.2.4 Tijdens het inkuilen

Gewassen die vaak worden ingekuild in Nederland zijn grassen en snijmaïs. Deze gewassen worden luchtdicht afgedekt zodat er een anaerobe fermentatie tot stand komt. Melkzuurbacteriën, van nature aanwezig, ontwikkelen zich snel en de pH daalt tot tussen de 4,0 en 4,2. De meeste schimmels ontwikkelen zich niet onder deze omstandigheden [100]. Schimmels en mycotoxines kunnen wel toenemen wanneer kuilvoer wordt blootgesteld aan lucht tijdens conservering of tijdens de voederfase [101]. *Aspergillus* spp. en AFB1 zijn beiden aangetroffen voor en na het inkuilen van diverse gewassen [21, 102]. De optimale pH voor de groei van *A. flavus* ligt tussen de 5,5 en 6 [67]. Een aantal studies vermelden een stijging in de concentraties van *Aspergillus* spp. en/of AFB1 na het inkuilen. Drie maanden na het inkuilen van maïs komen zearalenone, deoxynivalenone en ochratoxine A het meest voor, terwijl acht maanden na het inkuilen T-2, HT-2 en aflatoxinen het meest voorkomen [103]. Keller et al. (2013) vermelden ook een toename van zowel *Aspergillus* spp. en AFB1 na het inkuilen. AFB1 is bijvoorbeeld gemeten in 12% van de monsters met een gemiddelde concentratie van 7 µg/kg voor het inkuilen en in 12% van de monsters met een gemiddelde concentratie van 33 µg/kg na het inkuilen [44]. Een andere studie vermeldt juist een afname van AFB1 na het inkuilen van maïs. Aan het begin van het inkuilproces zijn AFB1-concentraties tot 30 µg/kg gemeten. Deze concentraties namen na enkele maanden af en stabiliseerde bij 10 µg/kg [35]. Deze zelfde trend werd ook waargenomen in een ander gewas door Uegaki et al. [104]: *Aspergillus* spp. werden gemeten in gras voor het inkuilen naar niet meer na het inkuilproces.

3.2.5 Conclusie

De groei van aflatoxine producerende schimmels en de vorming van aflatoxinen kunnen beiden zowel in het veld als tijdens de opslag plaatsvinden. In het lab hangen de groei van de schimmels en de vorming van aflatoxinen af van: de temperatuur, de wateractiviteit, de CO₂ concentratie en combinaties daarvan. De vorming van AFB1 komt met name voor bij hogere temperaturen: boven de 25°C en een wateractiviteit boven de 0,90. Zolang de aw lager is dan 0,77, vindt er bij geen enkele temperatuur aflatoxine-vorming plaats. Bij een aw tussen de 0,77 en 0,80, vindt aflatoxinevorming pas plaats boven de 27°C. Bij een temperatuur onder de 15°C, vindt ook geen AFB1-vorming plaats [53]. In het veld spelen andere factoren, zoals de voedingswaarde van het gewas, stress van het gewas en concurrentie met andere micro-organismen, ook een belangrijke rol in de groei van *A. flavus* en de vorming van aflatoxinen. Onder warme en vochtige omstandigheden kan *A. flavus* groeien en AFB1 vormen tijdens de opslag van ruwvoer of kuilvoer, ongeacht het gewas. De opslagcondities zijn daarom belangrijk.

3.3 Inschatting van de mate waarin gevoelige gewassen in Nederland worden geteeld, evenals mogelijke toekomstige nieuwe gevoelige gewassen

A. flavus, de meest relevante aflatoxine producerende schimmel in ruwvoer in Europa, kan veel verschillende gewassen infecteren. De schimmel groeit met name op suiker- en olierijke voedselbronnen, maar kan op elk gewas voorkomen mits de groeicondities gunstig zijn. Veel factoren, waaronder het voedingsgehalte van het gewas, beschadiging van het gewas door insecten of droogte, de temperatuur, de aw, de CO₂, licht, of pH bepalen of *A. flavus* wel of niet kan groeien en wel of niet aflatoxinen vormt (zie 3.1, 3.2).

De belangrijkste gewassen die momenteel in Nederland worden gebruikt als ruw- en kuilvoer voor melkvee zijn: vers gras, graskuil, grashooi, luzerne hooi, graan stro en gehele planten silage (bijvoorbeeld kuilen van snijmaïs, granen en/of erwten) [105]. In de komende jaren worden geen grote veranderingen verwacht wat betreft ruwvoer voor melkvee. Wanneer naar de arealen grasland en groenvoedergewassen tussen 2000 en 2021 wordt gekeken, zijn er geen substantiële verschuivingen te zien. Ruim de helft van de landbouwgrond in Nederland wordt gebruikt als grasland. Sinds het jaar 2000 is het areaal blijvend grasland wel afgenomen ten gunste van tijdelijk grasland. Het totale areaal grasland is licht gedaald. Het totale areaal groenvoedergewassen is ook licht gedaald sinds 2000, dit geldt vooral voor snijmaïs. Het areaal luzerne is licht gestegen. Het areaal voederbieten is sterk gestegen sinds 2000. Het areaal overige groenvoedergewassen, waaronder klaver, is ook toegenomen sinds 2019 [106].

In de toekomst moet de agrarische sector duurzamer worden en wordt gestreefd naar gebruik van minder eiwitten in het rantsoen van melkvee, het telen van meer biologische gewassen en het verminderen van het gebruik van bestrijdingsmiddelen. Het Nederlandse Zevende Actieprogramma Nitraatrichtlijn en het Nationaal Strategisch Plan ter invulling van het Europese Gemeenschappelijk Landbouwbeleid (GLB) kunnen tot lichte verschuivingen in de teelt van ruwvoer leiden [106, 107]. Een paar maatregelen zijn het streven naar meer blijvend grasland, het verplichten van rustgewassen in het bouwplan en het telen van een derde gewas voor bedrijven met meer dan 30 hectaren grond.

Rustgewassen, waaronder granen, grassen en vlinderbloemigen (bijvoorbeeld luzerne of klaver) binden stikstof in de grond en verbeteren de bodemstructuur [108]. Deze rustgewassen kunnen worden gebruikt als ruwvoer. Naast het dienen als rustgewas kunnen vlinderbloemigen ook dienen als derde gewas binnen het nieuwe gewasdiversificatiebeleid (GLB), bijvoorbeeld naast het telen van gras en maïs op een melkveebedrijf. De vlinderbloemigen luzerne of rode klaver zijn rijk aan eiwitten en kunnen ingekuild als balen, hooi of gedroogd worden gevoerd [109]. Voederbieten kunnen ook dienen als derde gewas. Voederbieten zijn goedkoop te produceren en hebben een hoog suikergehalte (50% op droogstofbasis) en een laag eiwitgehalte. Voederbieten kunnen vers worden gevoerd of worden ingekuild met andere gewassen, bijvoorbeeld met maïs [110].

De kans op aflatoxinebesmetting van de genoemde gewassen is klein. Aflatoxinen zijn gemeten op luzernehooi in Italië in lage concentraties, vergelijkbaar met grashooi [35]. Geen data is beschikbaar over aflatoxinebesmetting van klaver of voederbieten. Wanneer voederbieten vers worden gebruikt worden deze rond november geoogst. De temperaturen zijn dan dusdanig laag dat de groei van *A. flavus* en/of de productie van aflatoxinen in het veld zeer onwaarschijnlijk is. Hetzelfde geldt voor de opslag: de temperaturen vanaf de maand november maken de groei van *A. flavus* of de vorming van aflatoxinen zeer onwaarschijnlijk. Voederbieten kunnen ook samen met de maïs worden geoogst en samen worden ingekuild. De geschatte kans op aflatoxine in ingekuilde voederbieten met maïs is in dit geval vergelijkbaar met maïskuil.

3.4 Inschatting van de mate waarin bepaalde meteorologische omstandigheden die gunstig zijn voor aflatoxinevorming in Nederland voorkomen en in de toekomst worden verwacht in Nederland

3.4.1 Effect van klimaatverandering op de vorming van AFB1

Hoge temperaturen en droogte zorgen voor plantstress en maken het gewas gevoelig voor infectie door *Aspergillus spp.* en aflatoxinevorming op het veld [91]. Boven de 32°C vermindert de capaciteit voor plantengroei en de afweer van de plant, waardoor *A. flavus* makkelijk kan groeien en AFB1 produceren [21, 92]. Hoge temperaturen in de silo of andere opslagfaciliteit zijn ook gunstig voor aflatoxinevorming tijdens de opslag. De hoogte van deze temperaturen is afhankelijk van de aw. Ook een hoger CO₂-gehalte is gunstig voor aflatoxinevorming [49, 95]. Door de klimaatverandering kunnen aflatoxineproducerende schimmels zich gaan verspreiden naar gebieden die voorheen te koud voor hen waren [49, 111, 112].

Verder is ook aantasting door insecten een belangrijke factor voor besmetting met *A. flavus* en AFB1.

De Europese maïsboorder (*Ostrinia nubilalis*) komt in de meeste Europese landen, waaronder Nederland, in veel velden voor. Deze grasmot komt vooral in Zuid-Europa voor en zorgt daar ook voor de meeste schade, maar verspreid zich steeds verder naar het noorden uit. In Zuid-Europa (Frankrijk, Spanje, Portugal, Italië en Griekenland) veroorzaakt de mediterrane maïsboorder *Sesamia monagrioides* schade aan de gewassen. Een andere soort die in Oost-Europa schade aan maïs veroorzaakt is de kroonworm *D. virgifera* [113]. Klimaatveranderingen kunnen de verspreiding van deze insecten veranderen.

Een aantal aspecten is (nog) niet duidelijk. De invloed van de toename van zware neerslag in een korte tijd op de groei van schimmels en op de vorming van AFB1 is onduidelijk. Groeimodellen van de schimmel in het veld zijn gebaseerd op de totale regenval per dag. Verder wordt het effect van temperatuurstijging, CO₂-gehalte of wateractiviteit gemeten in het laboratorium of kleinschalige silo's. Onder deze omstandigheden worden veel bijkomende aspecten niet gezien, zoals de invloed van gelijktijdig voorkomen van schimmels onder verschillende meteorologische en ecologische omstandigheden, schimmel- en plantinteracties en hoe schimmelweerbaarheid wordt beïnvloed door op elkaar inwerkende klimaatveranderingsfactoren [114].

3.4.2 Klimaatverandering

3.4.2.1 Wereld

Wereldwijd komen hete extremen (inclusief hittegolven) steeds vaker voor sinds de jaren 50 van de vorige eeuw, terwijl koude extremen (inclusief koude golven) minder vaak voorkomen en minder hevig zijn geworden. De frequentie en intensiteit van zware neerslag (inclusief overstromingen) zijn sinds 1950 in de meeste gevallen toegenomen. Het IPCC voorspelt dat de wereldwijde luchttemperatuur tussen 2021–2040 met gemiddeld 1,5°C zal toenemen. Deze voorspellingen gelden voor klimaatscenario's met lage en hoge broeikasgas (BKG)-emissies. Tussen 2041–2060 wordt een stijging van de oppervlaktemperatuur tussen de 1,6 en 2,4°C voorspeld, voor respectievelijk de scenario's met zeer lage BKG-emissies en zeer hoge BKG-emissies. De hoogte van de BKG-emissies zijn afhankelijk van de maatregelen die genomen worden om klimaatverandering tegen te gaan [115].

3.4.2.2 Europa

In Europa, net als wereldwijd, wordt ongeacht het emissiescenario, een stijging van de gemiddelde temperatuur van 1,5°C voorspeld tussen 2021 en 2040. Extreme hitte in de zuidelijke Europese regio's zal vaker kritische drempels voor gezondheid, landbouw en andere sectoren overschrijden. Het is zeer waarschijnlijk dat de frequentie van koude- en vorstdagen in de loop van deze eeuw zal blijven afnemen en het is waarschijnlijk dat koude periodes tegen het einde van de eeuw vrijwel zullen verdwijnen. Een toename van wateroverlast in Noord-Europa en afnemende neerslag in Zuid-Europa wordt ook weergegeven door Europese klimaatsimulaties [115].

De voorspelling is dat de jaarlijkse gemiddelde neerslag zal toenemen in Noord- en Midden-Europa en zal afnemen in Zuid-Europa. Zuid-Europa zal het hele jaar door minder regenval krijgen. De afname kan oplopen tot 30-45%. In Noord- en Midden-Europa kan er minder neerslag in de zomer en meer neerslag in de winter worden verwacht. Voor Nederland ligt dit in de orde van +5% in de winter en -10% in de zomer. Gebieden langs de Atlantische oceaan zullen geconfronteerd worden met toenemende regenval in de winter, drogere zomers, meer overstromingen in de winter en meer kans op kusterosie. Op basis van beschikbare gegevens wordt verwacht dat de atmosferische concentraties van CO₂ de komende 25-50 jaar zullen verdubbelen of verdrievoudigen (van 350-400 tot 800-1200 ppm) [116].

3.4.2.3 Nederland

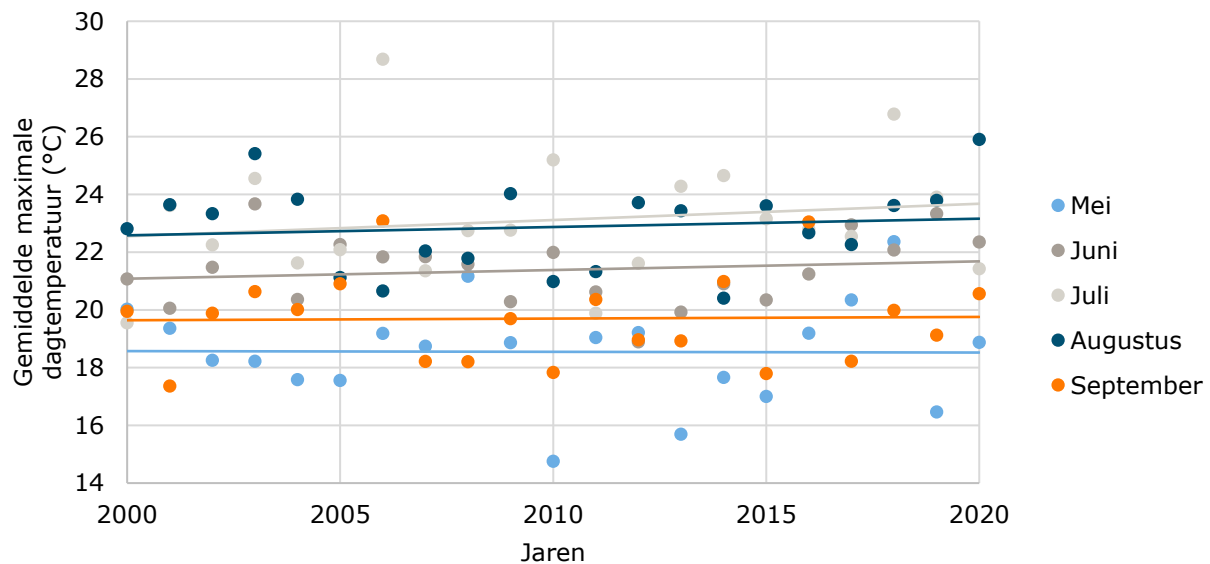
Tussen 2000 en 2021 is de gemiddelde jaartemperatuur met 0,7°C (trendline) gestegen [117]. Om het Nederlandse klimaat na 2021 te kunnen voorspellen, gebruikt het KNMI vier verschillende klimaatscenario's die verschillen in de mate waarin de wereldwijde temperatuur stijgt en de mogelijke verandering van het luchtstromingspatroon [117]. De gemiddelde jaartemperatuur rond 2050 ligt tussen de 0,2 en 1,5°C hoger ten opzichte van 2021, afhankelijk van het gekozen scenario's en onzekerheden. De veranderingen van de gemiddelde lente-, zomer-, herfst- en wintertemperaturen volgens het KNMI zijn te vinden in Tabel 5.

Over het algemeen zijn neerslagextremen over de laatste 50 tot 100 jaar toegenomen. Extreme neerslag is gedefinieerd als neerslag boven de 50 mm in een uur of boven de 100 mm per dag [118]. Afhankelijk van het gekozen klimaatscenario en de onzekerheden, wordt een toename van extreme neerslag tussen de 3,9 en 7,7% voorspeld voor 2030 ten opzichte van 2014. De voorspellingen voor 2050 liggen tussen de +3,9 en +21,3% ten opzichte van 2014 [119].

Tabel 5 Gemiddelde temperaturen in 2000, 2020/21 en 2050 in Nederland (KNMI) [117].

	2000 (trendline)	2020/21 (trendline)	2020/21 Stijging tov 2000	2050 (4 KNMI klimaatscenario's)	2050 Stijging tov 2020/21
Gem. jaartemperatuur (°C) (januari t/m december)	10,3	11,0	0,7	11,2 – 12,5	0,2 – 1,5
Gem. lentetemperatuur (°C) (maart t/m mei)	9,7	10,0	0,3	10,4 – 11,6	0,4 – 1,6
Gem. zomertemperatuur (°C) (juni t/m augustus)	17,2	18,0	0,8	18,0 – 19,3	0,0 – 1,3
Gem. herfsttemperatuur (°C) (september t/m november)	10,7	11,4	0,7	11,7 – 12,7	0,3 – 1,3
Gem. wintertemperatuur (°C) (december t/m februari)	3,7	4,6	0,9	4,5 – 6,1	0,0 – 1,5

De gemiddelde temperaturen die tot nu toe beschreven zijn betreffen de dag- en nachttemperaturen. Voor de vorming van mycotoxinen zijn echter de maximale dagtemperaturen van belang. Verder zijn de temperaturen in bepaalde periodes van belang: met name vanaf de bloei tot en met de oogst, grofweg van juni tot en met september. Voor de maanden juni, juli en augustus is de tendens een lichte stijging van de maximale dagtemperatuur van respectievelijk 0,6°C, 1,1°C en 0,6°C (Figuur 2 en Tabel 6) [120].



Figuur 2 Gemiddelde maximale dagtemperaturen per maand en per jaar in Nederland (KNMI) [120].

Tabel 6 Gemiddelde maximale dagtemperaturen per maand in 2000 en 2021 in Nederland, gebaseerd op gemeten temperaturen (KNMI) [117].

	2000 (trendline)	2021 (trendline)	Stijging (°C)
Mei (maximale temperaturen, °C)	18,6	18,5	-0,1
Juni (maximale temperaturen, °C)	21,1	21,7	0,6
Juli (maximale temperaturen, °C)	22,5	23,6	1,1
Augustus (maximale temperaturen, °C)	22,5	23,1	0,6
September (maximale temperaturen, °C)	19,6	19,7	0,1

3.4.3 Conclusie

Doordat verschillende regio's van Europa, met name Zuid-Europa, te maken kunnen krijgen met temperatuurstijgingen in combinatie met verhoogde CO₂ en droogteperiodes, zullen plagen en ziekten, waaronder schimmelinfecties en mycotoxinevorming toenemen of veranderen, wat uiteindelijk de gewasopbrengst in gevaar kan brengen [114, 121]. Wat Nederland betreft liggen de voorspelde temperatuurstijgingen voor de zomer in 2050 tussen de 0,0 en 1,3°C. Aangezien de gemiddelde maandtemperaturen beneden de 25 °C blijven, zal dit niet leiden tot meer vorming van aflatoxinen in Nederlandse gewassen ten opzichte van de huidige situatie.

3.5 Beschrijving van (toekomstige) condities waarbij vorming van AFB1 in Nederlands ruwvoer denkbaar is

Alle gewassen zijn gevoelig voor de groei van *Aspergillus spp.* en de vorming van aflatoxinen. Aflatoxinen zijn gemeten in Europa in diverse soorten ruwvoer zoals maïskuil, graskuil, hooi, of stro. De hoogste concentraties zijn gemeten in katoenzaad, maïskuil en graskuil (zie 3.2).

Naast de voedingsstoffen van het gewas beïnvloedt met name de temperatuur de groei van aflatoxine producerende schimmels en de vorming van aflatoxinen. Temperaturen boven de 25°C zijn gunstig voor de groei van *Aspergillus spp.* en de vorming van aflatoxinen in laboratoriumcondities. Recente aflatoxine-uitbraken in Europa zijn dan ook geassocieerd met warme zomers. De zomer van 2015 was in Frankrijk uitzonderlijk heet en droog, met twee opeenvolgende hittegolven in juli, de maïsbloeiperiode. De temperaturen kwamen gedurende 10 tot 15 dagen boven de 33 °C. In diezelfde periode werd in een groot deel van het land ook een neerslagtekort van gemiddeld meer dan 40% opgetekend, dat van april tot eind juli duurde, waardoor de bovenste bodemlaag uitdroogde. Deze uitzonderlijke klimatologische omstandigheden hebben de ontwikkeling van *A. flavus* mogelijk gemaakt en de daaropvolgende AFB1-vorming. Maïsmonsters genomen tijdens de oogst waren besmet tot maximaal 66 µg/kg AFB1 [122]. De ongewoon hoge besmetting van sojabonen, maïs, tarwe en zonnebloempitten met *A. flavus* en AFB1 in Servië in 2012 werd veroorzaakt door extreem stressvolle weersomstandigheden. Het klimaat van juni tot oktober 2012, van de bloei tot de oogst, was gekenmerkt door hoge temperaturen met weinig tot geen neerslag. Verder was dat jaar ook een toename van het aantal Europese maïsboorders gemeten vergeleken met het jaar daarvoor [123]. De extreme droogte en de rupsen van de maïsboorders zorgen voor stress en schade aan de gewassen, die daardoor vatbaarder worden voor schimmelinfecties.

In Nederland zijn gemiddelde maandtemperaturen boven de 25°C in de afgelopen 20 jaren niet vaak gemeten. Deze zijn alleen gemeten in juli in 2006 (28,6°C), 2010 (25,2°C), 2018 (26,8°C) en in augustus in 2004 (25,4°C) en 2020 (25,9°C). Vooral het jaar 2006 leek gunstig voor de vorming van aflatoxinen door de hoge gemiddelde temperatuur in juli (28,6°C), 5,6°C hoger dan gemiddeld en weinig neerslag in diezelfde maand (15 mm). In dit jaar was de gemiddelde AFB1-concentratie in maïsmonsters niet hoger dan andere jaren, al was het aantal geanalyseerde monsters zeer gering [22]. Ook in 2018 zijn hogere temperaturen dan gemiddeld gemeten: in mei (+3°C) en juli (+3°C) (Figuur 2) [120].

De gemiddelde maximale temperaturen van de maanden juli en augustus van de afgelopen 20 jaar zijn respectievelijk 23,1°C en 22,9°C. Met de aanname dat deze temperaturen tot 1,3°C zullen stijgen rond 2050, zal dit niet leiden tot gemiddelde maandtemperaturen boven de 25°C. Alhoewel de gemiddelde temperaturen niet zullen leiden tot de vorming van aflatoxine in Nederlands ruwvoer, kan extreem weer zoals droogteperiodes, hittegolven of extreme neerslag wel een invloed hebben. Deze extreme omstandigheden, in combinatie met een verhoogd CO₂-gehalte, zouden lokaal kunnen leiden tot de vorming van aflatoxine in ruwvoer in Nederland, al zijn concentraties aflatoxinen in de buurt van de wettelijke normen niet te verwachten.

Ook na de oogst kunnen aflatoxinen worden gevormd. Slechte opslagomstandigheden (warm, vochtig, beschadigingen door insecten en knaagdieren) kunnen leiden tot de vorming van aflatoxinen in ruwvoer. Ook in ingekuild voer kunnen aflatoxinen worden gevormd. Met name na de blootstelling van de kuil aan de lucht. Deze aerobe omstandigheden leiden tot snelle consumptie van fermentatieproducten en restsuikers door schimmels en aerobe bacteriën, wat weer leidt tot hoge temperaturen (meer dan 10°C verschil met de omgevingstemperatuur) en een hoge aw (>0,99). Het snel en goed luchtdicht afdekken van de kuil, het verwijderen van voldoende hoeveelheden tijdens het voeren en eventueel het aanbrengen van een nieuwe zuurstofbarrière met plastic films na het openen van de kuil kunnen de vorming van aflatoxinen voorkomen (Cavallarin 2011). Echter, de gemiddelde temperaturen in Nederland zijn na de maand augustus dusdanig laag dat de vorming van aflatoxine in opgeslagen ruw- of kuilvoer niet te verwachten is.

3.6 Analyse van enkele weerscenario's: is het denkbaar dat aflatoxinevorming voor gaat komen in Nederlands ruwvoer?

De jaren 2006, 2016-2018 zijn uitgekozen als weerscenario's. Deze jaren laten een verschillend weerbeeld zien, zoals in weergegeven in Tabel 7. Het jaar 2006 valt op door de warme en droge maand juli: gemiddeld 28,7°C, wat 5,6°C meer is ten opzichte van het gemiddelde van 2000–2020 en maar 15 mm regen. In 2018 is de gemiddelde maximale dagtemperatuur van de maand juli 26,8°C: 3,7°C warmer dan gemiddeld. Verder zijn de maanden juni en juli in 2018 heel droog (respectievelijk 12 en 5 mm regen). De jaren 2016 en 2017 hebben gemiddelde dagtemperaturen voor de maanden juni tot en met september. In 2016 viel er veel regen in juni (121 mm) en in 2017 viel er veel regen in juli (132 mm).

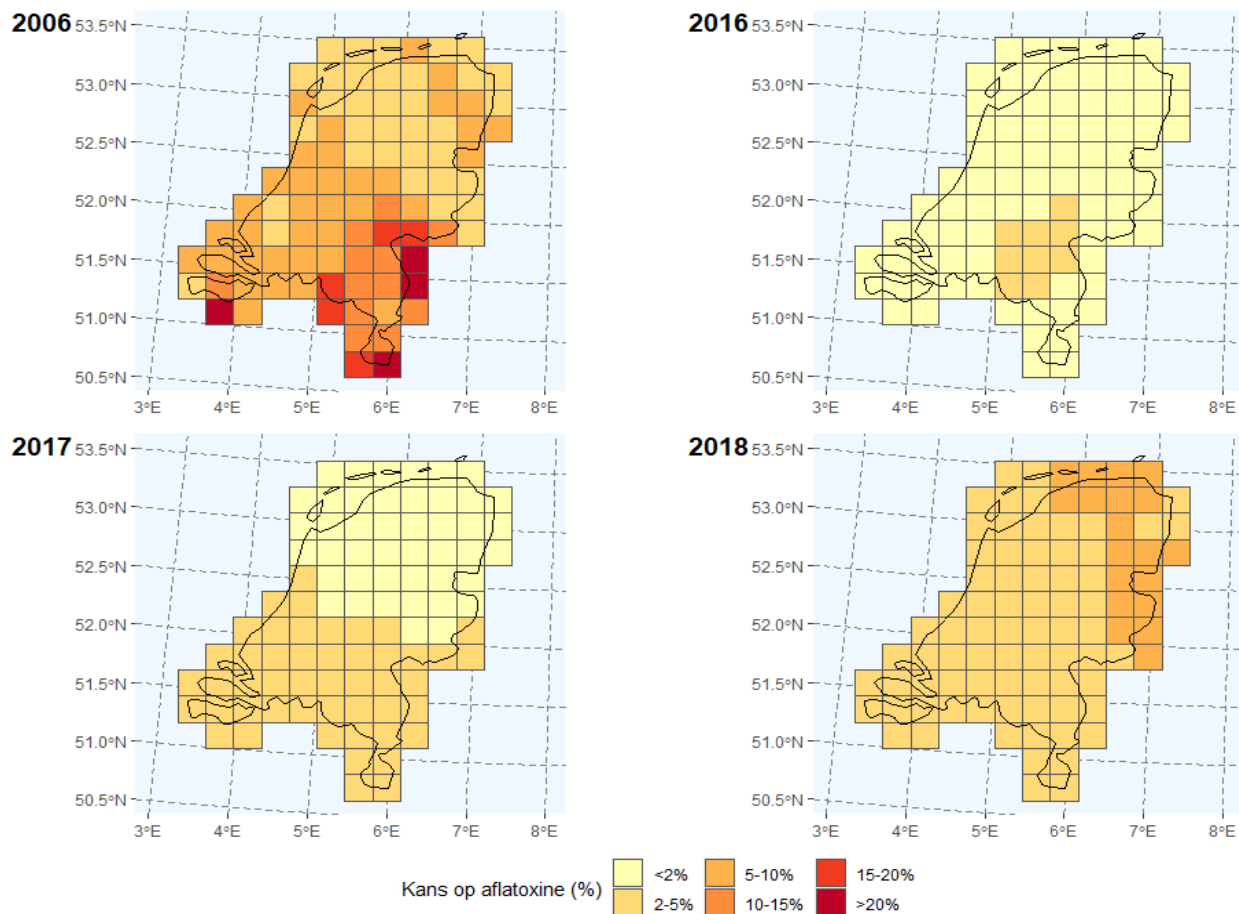
Tabel 7 Gemiddelde maximale dagtemperatuur en totale regenval in maanden mei t/m oktober in de jaren 2016, 2017, 2006 en 2018.

	2006		2016		2017		2018	
	Temp (°C)	Regen (mm)	Temp (°C)	Regen (mm)	Temp (°C)	Regen (mm)	Temp (°C)	Regen (mm)
Juni	21,8	18	21,2	155	22,9	61	22,1	12
Juli	28,7	15	22,8	73	22,5	132	26,8	5
Augustus	20,7	180	22,7	72	22,3	53	23,6	69
September	23,1	9	23,0	18	18,2	121	20,0	42

Aan de hand van een voorspellend model, beschreven in sectie 2.3, en een grid met roosterpunten van 25x25 km, is de kans op aflatoxinebesmetting in (snij)maïs ingeschat. De AFB1-concentraties voor deze kansen zijn niet in te schatten met de huidige beschikbare data. Figuur 3 laat de voorspelde kans op aflatoxinen op het moment dat het gewas rijp is, per roosterpunt zien. In de jaren 2006 en 2018, ligt de kans op aflatoxinen in elk roosterpunt boven de 2%. In 2006 zijn er zelfs vier roosterpunten met een kans op aflatoxine boven de 20%. In 2016 is de kans op aflatoxinen grotendeels onder de 2%, een paar roosterpunten hebben een kans tussen de 2 en 5%. In 2017 zien we een tweedeling van het land: in het zuiden is de kans tussen de 2 en 5% en in het noorden onder de 2%.

Wanneer wordt ingezoomd op het roosterpunt met de hoogste geschatte kans op aflatoxinen in 2006 is te zien dat de gemiddelde maximale dagtemperatuur daar in de maand juli 30,6°C was (Tabel 8). Deze temperatuur is optimaal voor de vorming van aflatoxinen. Het roosterpunt met de laagste kans op aflatoxine in 2016 laat relatieve koele maanden juni, juli en augustus zien (respectievelijk 21,8°C, 23,1° en 22,6°C) met veel regenval in juni (114 mm) en juli (60 mm).

Door de kansen op aflatoxinen en het weer te vergelijken, kunnen we concluderen dat periodes van droogte en warmte na de bloei (zoals in 2006 en 2018) tot een hogere kans op aflatoxine vorming leidt. Natte, koelere, zomers zoals in 2016 of 2017 leiden daarentegen tot een zeer lage kans op vorming van aflatoxinen. Bij droge en warme zomers, met dagtemperaturen richting de 30°C voor een langere periode, of lokaal droge en warme omstandigheden, is het aan te raden extra monsters te analyseren op AFB1, al blijft de kans op besmetting en overschrijding van wettelijke normen in Nederland gering.



Figuur 3 Geschatte kans op aflatoxine, gebaseerd op het weer in de jaren 2006, 2016, 2017 en 2018.

Tabel 8 Gemiddelde maximale dagtemperatuur en totale regenval op de roosterpunten (25x25km) met de hoogste kans op aflatoxinen in 2006 en met de laagste kans op aflatoxinen in 2016.

	Roosterpunt in 2016 met de laagste kans op aflatoxinen		Roosterpunt in 2006 met de hoogste kans op aflatoxinen	
	Temp (°C)	Regen (mm)	Temp (°C)	Regen (mm)
Mei	19,9	35	20,2	104
Juni	21,8	114	23,6	20
Juli	23,1	60	30,6	21
Augustus	22,6	37	21,4	114
September	23,0	20	24,1	10
Oktober	13,0	34	17,8	84

4 Conclusies

Veel factoren hebben invloed op de groei van *A. flavus*, zowel intrinsieke eigenschappen van het gewas als externe omstandigheden. De voedingsstoffen van het gewas die gunstig zijn voor infectie van het gewas en groei van *A. flavus* en de vorming van AFB1 zijn heel weinig onderzocht. Wel is af te leiden dat hogere concentraties AFB1 worden gemeten op olierijke en suikerrijke producten. De effecten van temperatuur en aw zijn daarentegen wel in veel studies onderzocht voor diverse substraten in het lab. Temperaturen rond de 30°C en aw boven de 0,90 lijken optimaal voor de groei van *A. flavus* en de vorming van AFB1 in laboratorium condities. Daarbij worden recentelijk ook steeds vaker de pH, licht en CO₂ meegenomen. Al deze factoren hebben invloed op de groei van *A. flavus* en de vorming van aflatoxinen. De effecten van deze factoren zijn veelal in het lab gemeten en een enkele studie gaf het effect van deze factoren tijdens de opslag. In het lab en tijdens de opslag zijn in het algemeen warme en vochtige omstandigheden gunstig voor de groei van *A. flavus* en de vorming van aflatoxinen. Interacties tussen al deze factoren (temperatuur, aw, pH, CO₂ en licht) zijn ook heel belangrijk. Deze zijn echter complex en nog niet altijd duidelijk.

In het veld spelen extra factoren een rol zoals de weerbaarheid van het gewas, zonlicht of competitie tussen micro-organismen en schimmels in de bodem en op het gewas. Temperaturen rond de 30°C zijn gunstig voor de groei van *A. flavus* en de vorming van aflatoxinen. Ook lijkt langdurige droogte gunstig te zijn voor de groei van *A. flavus* en de vorming van aflatoxinen. Langdurige droogte en warmte zorgen voor stress bij het gewas, wat kan leiden tot een verminderde weerbaarheid tegen schimmelinfecties.

Grote veranderingen wat betreft de gewassen die in de nabije toekomst gebruikt zullen worden als ruwvoer voor melkvee in Nederland zijn niet te verwachten. Dit zal de kans op aflatoxinevorming in Nederlands ruw- of kuilvoer niet beïnvloeden. De keuze van het gewas heeft uiteindelijk ook minder invloed op aflatoxinevorming dan de weersomstandigheden.

Droge en warme zomers kunnen ook in Nederland een licht verhoogde kans op aflatoxinen in ruwvoer opleveren. De kans op besmetting blijft gering en de verwachte concentraties blijven laag. Wanneer naar de verwachtingen wat betreft de gemiddelde dagtemperaturen in 2030 of zelfs 2050 wordt gekeken, zijn hoge concentraties aflatoxinen nog steeds niet te verwachten in ruw- en kuilvoer geteeld in Nederland. Extreem weer, zoals droogteperiodes, hittegolven en extreme neerslag zouden eventueel lokaal kunnen leiden tot vorming van aflatoxine in ruwvoer in Nederland. Ook al zijn concentraties aflatoxinen richting de wettelijke normen op korte termijn niet te verwachten in Nederland, koele en droge omstandigheden voor de opslag van ruwvoer blijven essentieel om hoge concentraties aflatoxinen te voorkomen. Ook het luchtdicht houden van kuilen blijft essentieel om de vorming van zowel aflatoxinen als andere mycotoxinen te voorkomen.

Samengevat:

- Elk gewas kan besmet raken met aflatoxinen, in het veld of tijdens de opslag; daardoor zijn klimaatveranderingen relevanter voor de productie van aflatoxinen door schimmels /of voor de groei van aflatoxine producerende schimmels dan de teelt van nieuwe gewassen.
- Uit het literatuuronderzoek blijkt dat er geen andere gewassen naar voren komen die gevoeliger zouden zijn voor aflatoxinebesmetting dan (snij)maïs.
- De verwachting voor de komende 10 jaar is dat de kans op besmetting met aflatoxinen, en daardoor ook op overschrijding van wettelijke normen, van gewassen geteeld in Nederland zeer gering blijft en niet anders zal zijn dan het huidige risico.
- Lokaal kunnen zeer droge en warme omstandigheden in de maanden juni tot en met oktober wel leiden tot verhoogde concentraties. Extra monitoring is dan aan te raden.
- In Oost en Zuid-Europa zijn in de komende jaren meer periodes met extreme hitte of droogte te verwachten. Onder die omstandigheden is extra monitoring voor geïmporteerde gewassen uit die gebieden gewenst.
- Koele en droge opslagomstandigheden van ruwvoer en goed kuilmanagement blijven essentieel om de vorming van aflatoxinen te voorkomen.

Literatuur

1. Martinez-Miranda, M.M., M. Rosero-Moreano, and G. Taborda-Ocampo, *Occurrence, dietary exposure and risk assessment of aflatoxins in arepa, bread and rice*. Food Control, 2019. **98**: p. 359-366.
2. Magan, N. and D. Aldred, *Why do fungi produce mycotoxins?*, in *Food Mycology*. 2007, CRC Press. p. 135-148.
3. Coppock, R.W., R.G. Christian, and B.J. Jacobsen, *Chapter 69 - Aflatoxins*, in *Veterinary Toxicology (Third Edition)*, R.C. Gupta, Editor. 2018, Academic Press. p. 983-994.
4. Churchill, K.A., *The carry-over of aflatoxins in dairy feed to milk of modern holstein dairy cows*. 2017: Cornell University.
5. Van Egmond, H., *Aflatoxin M1: Occurrence, toxicity, regulation*. Mycotoxins in Dairy products., 1989: p. 11-55.
6. NVWA, *Advies van bureau Risicobeoordeling & onderzoek - Risicobeoordeling diervoederketen Trcwa/2018/9523 - Bijlagen* 2019.
7. Gallo, A., et al., *Review on mycotoxin issues in ruminants: Occurrence in forages, effects of mycotoxin ingestion on health status and animal performance and practical strategies to counteract their negative effects*. Toxins, 2015. **7**(8): p. 3057-3111.
8. Peles, F., et al., *Adverse Effects, Transformation and Channeling of Aflatoxins Into Food Raw Materials in Livestock*. Frontiers in Microbiology, 2019. **10**.
9. Sultana, N., et al., *Distribution of various mycotoxins in compound feed, total mix ration and silage*. Pakistan Veterinary Journal, 2013. **33**(2): p. 200-204.
10. Chohan, K.A., et al., *Assessment of aflatoxin in dairy concentrate feeds, total mixed rations, silage and various feed ingredients in Pakistan*. Pakistan Journal of Zoology, 2016. **48**(1): p. 277-280.
11. Nazir, A., et al., *Incidences and bio-detoxification of aflatoxins in rice and cattle feed crops under different agro-ecological zones*. Polish Journal of Environmental Studies, 2021. **30**(2): p. 1949-1954.
12. Reyes-Velázquez, W.P., et al., *Occurrence of fungi and mycotoxins in corn silage, Jalisco State, Mexico*. Revista Iberoamericana de Micología, 2008. **25**(3): p. 182-185.
13. Huerta-Treviño, A., et al., *Occurrence of Mycotoxins in Alfalfa (Medicago sativa L.), Sorghum [Sorghum Bicolor (L.) Moench], and Grass (Cenchrus ciliaris L.) Retailed in the State of Nuevo león, México*. Agrociencia, 2016. **50**(7): p. 825-836.
14. Liu, N., et al., *Improved Aflatoxins and Fumonisin Forecasting Models for Maize (PREMA and PREFUM), Using Combined Mechanistic and Bayesian Network Modeling—Serbia as a Case Study*. Frontiers in Microbiology, 2021. **12**(630).
15. Liu, J., et al., *Effects of nutrients in substrates of different grains on aflatoxin B1 production by Aspergillus flavus*. BioMed research international, 2016. **2016**.
16. Rajasekaran, K., et al., *Aspergillus flavus growth and aflatoxin production as influenced by total lipid content during growth and development of cottonseed*. Journal of Crop Improvement, 2017. **31**(1): p. 91-99.
17. Fink-Gremmels, J., *Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review*. Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 2008. **25**(2): p. 172-180.
18. Mahato, D.K., et al., *Aflatoxins in Food and Feed: An Overview on Prevalence, Detection and Control Strategies*. Frontiers in Microbiology, 2019. **10**(2266).
19. EFSA CONTAM Panel, Dieter, Schrenk, Bignami, Margherita, Bodin, Laurent, Chipman, James Kevin, del Mazo, Jesús, Grasl-Kraupp, Bettina, Hogstrand, Christer, Hoogenboom, Laurentius (Ron), Leblanc, Jean-Charles, Nebbia, Carlo Stefano, Nielsen, Elsa, Ntzani, Evangelia, Petersen, Annette, Sand, Salomon, Schwertdle, Tanja, Vleminckx, Christiane, Marko, Doris, Oswald, Isabelle P, Piersma, Aldert, Routledge, Michael, Schlatter, Josef, Baert, Katleen, Gergelova, Petra and Wallace, Heather. Annexes to the risk assessment of aflatoxins in food. Zenodo. doi:10.5281/zenodo.3607186. 2020.
20. Okello, D., et al., *Management of aflatoxins in groundnuts: A manual for farmers, processors, traders and consumers in Uganda*. Entebbe: National Agricultural Research Organisation, 2010: p. 1-38.

-
21. Ogunade, I.M., et al., *Silage review: Mycotoxins in silage: Occurrence, effects, prevention, and mitigation*. Journal of Dairy Science, 2018. **101**(5): p. 4034-4059.
 22. van Asselt, E.D., et al., *A Dutch field survey on fungal infection and mycotoxin concentrations in maize*. Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 2012. **29**(10): p. 1556-1565.
 23. Richard, J.L., *Mycotoxin photosensitivity*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 1973. **163**(11): p. 1298-1299.
 24. Richard, E., et al., *Toxigenic fungi and mycotoxins in mature corn silage*. Food and Chemical Toxicology, 2007. **45**(12): p. 2420-2425.
 25. Rodríguez-Blanco, M., et al., *Usefulness of the analytical control of aflatoxins in feedstuffs for dairy cows for the prevention of aflatoxin M1 in milk*. Mycotoxin Research, 2020. **36**(1): p. 11-22.
 26. Buckle, A.E., *The occurrence of mycotoxins in cereals and animal feed-stuffs*. Veterinary Research Communications, 1983. **7**(1): p. 171-186.
 27. Tsiplakou, E., et al., *Determination of mycotoxins in feedstuffs and ruminant's milk using an easy and simple LC-MS/MS multiresidue method*. Talanta, 2014. **130**: p. 8-19.
 28. Spirić, D.M., et al., *Study of aflatoxins incidence in cow feed and milk in serbia during 2013*. Hemijska Industrija, 2015. **69**(6): p. 651-656.
 29. Skladanka, J., et al., *How do grass species, season and ensiling influence mycotoxin content in forage?* International Journal of Environmental Research and Public Health, 2013. **10**(11): p. 6084-6095.
 30. Glamočić, D., et al., *Occurrence of aflatoxin B1, ochratoxin A and zearalenone in maize silage in the region of Vojvodina, Serbia*. Acta Veterinaria, 2019. **69**(1): p. 106-115.
 31. Baliukoniene, V., et al., *Prevalence of fungi and mycotoxins in silage and milk in Lithuania*. Veterinarija ir Zootechnika, 2012. **59**(81): p. 3-9.
 32. Křížová, L., et al., *Chemical, physical and technological properties of milk as affected by the mycotoxin load of dairy herds*. Archives Animal Breeding, 2016. **59**(2): p. 293-300.
 33. Shad, Z.M. and G.G. Atungulu. *Evaluation of feeds for occurrence of aflatoxin and safety*. in 2017 ASABE Annual International Meeting. 2017.
 34. Richard, E., et al., *Evaluation of fungal contamination and mycotoxin production in maize silage*. Animal Feed Science and Technology, 2009. **148**(2-4): p. 309-320.
 35. Garon, D., et al., *Mycoflora and multimycotoxin detection in corn silage: Experimental study*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006. **54**(9): p. 3479-3484.
 36. Tomasi, L., et al., *Recherches preliminaires sur la presence d'aflatoxine B1 dans les fourrages fanes de la province de Reggio Emilia (Italie)*. Fourrages, 1999. **158**: p. 179-186.
 37. Driehuis, F., et al., *Occurrence of mycotoxins in feedstuffs of dairy cows and estimation of total dietary intakes*. J Dairy Sci, 2008. **91**(11): p. 4261-71.
 38. Driehuis, F., et al., *Occurrence of mycotoxins in maize, grass and wheat silage for dairy cattle in the Netherlands*. Food Additives & Contaminants: Part B, 2008. **1**(1): p. 41-50.
 39. Tenbrink, K.M., J. Schulz, and N. Kemper, *Mycotoxin contamination of selected organic enrichment materials used in pig farming*. Agriculture (Switzerland), 2020. **10**(11): p. 1-13.
 40. Zachariasova, M., et al., *Occurrence of multiple mycotoxins in european feedingstuffs, assessment of dietary intake by farm animals*. Animal Feed Science and Technology, 2014. **193**: p. 124-140.
 41. Panasiuk, L., et al., *Frequency and levels of regulated and emerging mycotoxins in silage in Poland*. Mycotoxin Research, 2019. **35**(1): p. 17-25.
 42. Boudra, H., et al., *Presence of mycotoxins in sugar beet pulp silage collected in France*. Animal Feed Science and Technology, 2015. **205**: p. 131-135.
 43. González Pereyra, M.L., et al., *Comparative analysis of the mycobiota and mycotoxins contaminating corn trench silos and silo bags*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011. **91**(8): p. 1474-1481.
 44. Keller, L.A.M., et al., *Fungal and mycotoxins contamination in corn silage: Monitoring risk before and after fermentation*. Journal of Stored Products Research, 2013. **52**: p. 42-47.
 45. Schmidt, S.J. and A.J. Fontana Jr., *E: Water Activity Values of Select Food Ingredients and Products*, in *Water Activity in Foods*. 2020. p. 573-591.
 46. Magan, N. and A. Medina, *Integrating gene expression, ecology and mycotoxin production by Fusarium and Aspergillus species in relation to interacting environmental factors*. World Mycotoxin Journal, 2016. **9**(5): p. 673-684.

47. Medina, Á., et al., *Climate change factors and Aspergillus flavus: Effects on gene expression, growth and aflatoxin production*. World Mycotoxin Journal, 2015. **8**(2): p. 171-179.
48. Gilbert, M.K., et al., *Carbon Dioxide Mediates the Response to Temperature and Water Activity Levels in Aspergillus flavus during Infection of Maize Kernels*. Toxins, 2018. **10**(1): p. 5.
49. Baazeem, A., et al., *Impacts of Climate Change Interacting Abiotic Factors on Growth, aflD and aflR Gene Expression and Aflatoxin B1 Production by Aspergillus flavus Strains In Vitro and on Pistachio Nuts*. Toxins, 2021. **13**: p. 385.
50. Priesterjahn, E.M., R. Geisen, and M. Schmidt-Heydt, *Influence of light and water activity on growth and mycotoxin formation of selected isolates of aspergillus flavus and aspergillus parasiticus*. Microorganisms, 2020. **8**(12): p. 1-15.
51. Lv, C., et al., *Interaction of water activity and temperature on the growth, gene expression and aflatoxin production by Aspergillus flavus on paddy and polished rice*. Food Chemistry, 2019. **293**: p. 472-478.
52. Neme, K. and A. Mohammed, *Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategies. A review*. Food Control, 2017. **78**: p. 412-425.
53. Astoreca, A., et al., *Modelling the effect of temperature and water activity of Aspergillus flavus isolates from corn*. International Journal of Food Microbiology, 2012. **156**(1): p. 60-67.
54. Giorni, P., et al., *Growth and aflatoxin production of an Italian strain of Aspergillus flavus: Influence of ecological factors and nutritional substrates*. World Mycotoxin Journal, 2011. **4**(4): p. 425-432.
55. Bernáldez, V., et al., *The influence of ecophysiological factors on growth, aflR gene expression and aflatoxin B1 production by a type strain of Aspergillus flavus*. LWT - Food Science and Technology, 2017. **83**: p. 283-291.
56. Marín, S., et al., *Ecological determinants for germination and growth of some Aspergillus and Penicillium spp. from maize grain*. Journal of Applied Microbiology, 1998. **84**(1): p. 25-36.
57. Sautour, M., et al., *A temperature-type model for describing the relationship between fungal growth and water activity*. International Journal of Food Microbiology, 2001. **67**(1-2): p. 63-69.
58. Pitt, J. and A. Hocking, *Aspergillus and related teleomorphs*, in *Fungi and food spoilage*. 1997, Springer. p. 339-416.
59. Pitt, R.E., *Model of aflatoxin formation in stored products*. Transactions of the American Society of Agricultural Engineers, 1995. **38**(5): p. 1445-1453.
60. Schindler, A., J.G. Palmer, and W. Eisenberg, *Aflatoxin production by Aspergillus flavus as related to various temperatures*. Applied microbiology, 1967. **15**(5): p. 1006-1009.
61. Trenk, H.L. and P.A. Hartman, *Effects of moisture content and temperature on aflatoxin production in corn*. Applied microbiology, 1970. **19**(5): p. 781-784.
62. Holmquist, G., H. Walker, and H. Stahr, *Influence of temperature, pH, water activity and antifungal agents on growth of Aspergillus flavus and A. parasiticus*. Journal of Food Science, 1983. **48**(3): p. 778-782.
63. Niles, E., J.A. Norman, and D. Pimbley, *Growth and aflatoxin production of Aspergillus flavus in wheat and barley*. Transactions of the British Mycological society, 1985. **84**(2): p. 259-266.
64. Gallo, A., et al., *Effect of temperature and water activity on gene expression and aflatoxin biosynthesis in Aspergillus flavus on almond medium*. Int J Food Microbiol, 2016. **217**: p. 162-9.
65. Schmidt-Heydt, M., et al., *The production of aflatoxin B1 or G1 by Aspergillus parasiticus at various combinations of temperature and water activity is related to the ratio of aflS to aflR expression*. Mycotoxin Research, 2010. **26**(4): p. 241-246.
66. Hedayati, M.T., et al., *Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer*. Microbiology, 2007. **153**(6): p. 1677-1692.
67. Battilani, P., et al., *AFLA-maize, a mechanistic model for Aspergillus flavus infection and aflatoxin B1 contamination in maize*. Computers and Electronics in Agriculture, 2013. **94**: p. 38-46.
68. Krulj, J., et al., *The effect of storage temperature and water activity on aflatoxin B 1 accumulation in hull-less and hulled spelt grains*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019. **99**(7): p. 3703-3710.
69. Liu, X., et al., *Effect of water activity and temperature on the growth of Aspergillus flavus, the expression of aflatoxin biosynthetic genes and aflatoxin production in shelled peanuts*. Food Control, 2017. **82**: p. 325-332.

70. Norlia, M., et al., *Modelling the effect of temperature and water activity on the growth rate of Aspergillus flavus and aflatoxin production in peanut meal extract agar*. International Journal of Food Microbiology, 2020. **335**.
71. Abdel-Hadi, A., et al., *A systems approach to model the relationship between aflatoxin gene cluster expression, environmental factors, growth and toxin production by Aspergillus flavus*. Journal of the Royal Society Interface, 2012. **9**(69): p. 757-767.
72. Casquete, R., et al., *The growth and aflatoxin production of Aspergillus flavus strains on a cheese model system are influenced by physicochemical factors*. Journal of Dairy Science, 2017. **100**(9): p. 6987-6996.
73. Chuaysrinule, C., W. Mahakarnchanakul, and T. Maneeboon, *Comparative study on the effect of temperature and water activity on Aspergillus flavus and Aspergillus carbonarius isolates growth and mycotoxin production on a chili powder medium*. Cogent Food and Agriculture, 2020. **6**(1).
74. Gizachew, D., et al., *Aflatoxin B1 (AFB1) production by Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus on ground Nyjer seeds: The effect of water activity and temperature*. International Journal of Food Microbiology, 2019. **296**: p. 8-13.
75. Gizachew, D., et al., *Aflatoxin production by Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus on deoiled ground nyjer seeds*. World Mycotoxin Journal, 2021. **14**(2): p. 213-220.
76. Mousa, W., et al., *Modeling Growth Rate and Assessing Aflatoxins Production by Aspergillus flavus as a Function of Water Activity and Temperature on Polished and Brown Rice*. Journal of Food Science, 2013. **78**(1): p. M56-M63.
77. Yogendrarajah, P., et al., *Mycotoxin production and predictive modelling kinetics on the growth of Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus isolates in whole black peppercorns (Piper nigrum L)*. International Journal of Food Microbiology, 2016. **228**: p. 44-57.
78. Gizachew, D., et al., *Aflatoxin B1 (AFB1) production by Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus on ground Nyjer seeds: The effect of water activity and temperature*. International Journal of Food Microbiology, 2019. **296**: p. 8-13.
79. Aziz, N.H. and L.A.E. Moussa, *Influence of white light, near-UV irradiation and other environmental conditions on production of aflatoxin B1 by Aspergillus flavus and ochratoxin A by Aspergillus ochraceus*. Nahrung - Food, 1997. **41**(3): p. 150-154.
80. Choi, S., et al., *Behaviour of Aspergillus flavus and Fusarium graminearum on rice as affected by degree of milling, temperature, and relative humidity during storage*. Food Microbiology, 2015. **46**: p. 307-313.
81. Garcia-Cela, E., et al., *Carbon dioxide production as an indicator of Aspergillus flavus colonisation and aflatoxins/cyclopiazonic acid contamination in shelled peanuts stored under different interacting abiotic factors*. Fungal Biology, 2020. **124**(1): p. 1-7.
82. Garcia-Cela, E., et al., *Influence of storage environment on maize grain: CO 2 production, dry matter losses and aflatoxins contamination*. Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 2019. **36**(1): p. 175-185.
83. Garcia-Cela, E., et al., *Unveiling the effect of interacting forecasted abiotic factors on growth and aflatoxin B1 production kinetics by Aspergillus flavus*. Fungal Biology, 2021. **125**(2): p. 89-94.
84. Humza, M., et al., *Evaluation of growth media and in-vitro conditions for the assessment of aspergillus flavus growth and aflatoxin b1 in grapes*. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 2021. **58**(2): p. 447-460.
85. Obrian, G.R., et al., *The effect of elevated temperature on gene transcription and aflatoxin biosynthesis*. Mycologia, 2007. **99**(2): p. 232-239.
86. Pratiwi, C., et al., *The effect of temperature and relative humidity for Aspergillus flavus BIO 2237 growth and aflatoxin production on soybeans*. International Food Research Journal, 2015. **22**(1): p. 82-87.
87. Ribeiro, J.M.M., et al., *Influence of water activity, temperature and time on mycotoxins production on barley rootlets*. Letters in Applied Microbiology, 2006. **42**(2): p. 179-184.
88. Sorenson, W.G., C.W. Hesseltine, and O.L. Shotwell, *Effect of temperature on production of aflatoxin on rice by Aspergillus flavus*. Mycopathologia et Mycologia Applicata, 1967. **33**(1): p. 49-55.
89. Dell'orto, V., G. Baldi, and F. Cheli, *Mycotoxins in silage: Checkpoints for effective management and control*. World Mycotoxin Journal, 2015. **8**(5): p. 603-617.

-
90. Abbas, H.K., W.T. Shier, and R.D. Cartwright, *Effet of temperature, rainfall and planting date on aflatoxin and fumonisin contamination in commercial Bt and non-Bt corn hybrids in Arkansas*. Phytoprotection, 2007. **88**(2): p. 41-50.
 91. Prencipe, S., et al., *Chestnut drying is critical in determining Aspergillus flavus growth and aflatoxin contamination*. Toxins, 2018. **10**(12): p. 530.
 92. Pruter, L.S., M. Weaver, and M.J. Brewer, *Overview of Risk Factors and Strategies for Management of Insect-Derived Ear Injury and Aflatoxin Accumulation for Maize Grown in Subtropical Areas of North America*. Journal of Integrated Pest Management, 2021. **11**(1).
 93. Jallow, A., et al., *Worldwide aflatoxin contamination of agricultural products and foods: From occurrence to control*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021. **20**(3): p. 2332-2381.
 94. Ciegler, A., *Fungi that produce mycotoxins: Conditions and occurrence*. Mycopathologia, 1978. **65**(1-3): p. 5-11.
 95. Medina, A., et al., *Impacts of environmental stress on growth, secondary metabolite biosynthetic gene clusters and metabolite production of xerotolerant/xerophilic fungi*. Current Genetics, 2015. **61**(3): p. 325-334.
 96. Marín, S., A.J. Ramos, and V. Sanchis, *Modelling Aspergillus flavus growth and aflatoxins production in pistachio nuts*. Food Microbiology, 2012. **32**(2): p. 378-388.
 97. Mousa, W., et al., *Modelling the effect of water activity and temperature on growth rate and aflatoxin production by two isolates of Aspergillus flavus on paddy*. Journal of Applied Microbiology, 2011. **111**(5): p. 1262-1274.
 98. Mousa, W., et al., *Temperature, water activity and gas composition effects on the growth and aflatoxin production by Aspergillus flavus on paddy*. Journal of Stored Products Research, 2016. **67**: p. 49-55.
 99. Medina, A., et al., *Interactions between water activity and temperature on the Aspergillus flavus transcriptome and aflatoxin B1 production*. International Journal of Food Microbiology, 2017. **256**: p. 36-44.
 100. van Schooten, H., B. Philipsen, and J. Groten, *Wageningen Livestock Research. Handboek snijmais 40. Te downloaden op: <https://doi.org/10.18174/514592> of op: www.wur.nl/livestock-research*. 2019.
 101. Cavallarin, L., et al., *Aflatoxin accumulation in whole crop maize silage as a result of aerobic exposure*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011. **91**(13): p. 2419-2425.
 102. Wambacq, E., et al., *Occurrence, prevention and remediation of toxigenic fungi and mycotoxins in silage: A review*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016. **96**(7): p. 2284-2302.
 103. Jovaišiene, J., et al., *Mycotoxins and biogenic amines content and their changes during storages in produced in lithuania in maize silages*. Veterinarija ir Zootechnika, 2016. **73**: p. 58-63.
 104. Uegaki, R., T. Tsukiboshi, and Y. Cai, *Aspergillus flavus producing aflatoxins isolated from materials of commercial feed in Japan*. Japan Agricultural Research Quarterly, 2010. **44**(4): p. 421-427.
 105. Wageningen Livestock Research, *Hanboek Melkveehouderij 2020/21. Hoofdstuk 6 - Veevoeding. Available at: <https://www.wur.nl/nl/show/Handboek-Melkveehouderij-2020-H6.htm>*. 2020.
 106. Ministerie van Landbouw Natuur en Voedselkwaliteit and Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat, *7e Nederlandse actieprogramma betreffende de Nitraatrichtlijn (2022 - 2025). Te downloaden: <https://www.rijksoverheid.nl/documenten/rapporten/2021/09/06/consultatie-en-milieueffectrapportage-voor-het-7e-actieprogramma-nitraatrichtlijn>*. 2021.
 107. Ministerie van Landbouw Natuur en Kwaliteit, *Nationaal Statistisch Plan NSP-GLB 23-27 - ontwerp. <https://nsp-toekomstglb.nl/>*. 2021.
 108. Nederlandse Akkerbouw Vakbond, *Bouwplan en gewasrotatie. <http://www.akkerbouw-van-nu.nl/gewassen-teelt/gewassen/bouwplan-en-gewasrotatie/>*. 2017.
 109. Boerenbond, *Dossier. Vlinderbloemigen als derde teelt op rundveebedrijven*. Management & Techniek, 2015. **6**.
 110. Boerenbond, *Voederbieten, een troef voor het melkveeantsoen*. Management & Techniek, 2015. **5**.
 111. Moretti, A., M. Pascale, and A.F. Logrieco, *Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe*. Trends in Food Science & Technology, 2019. **84**: p. 38-40.
 112. Battilani, P., et al., *Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change*. Scientific Reports, 2016. **6**(1): p. 24328.
 113. EFSA Panel on Plant Health, *Pest risk assessment of Spodoptera frugiperda for the European Union*. EFSA Journal, 2018. **16**(8): p. e05351.

-
114. Leggieri, M.C., P. Toscano, and P. Battilani, *Predicted aflatoxin b1 increase in europe due to climate change: Actions and reactions at global level*. Toxins, 2021. **13**(4).
 115. IPCC, *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S. L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M. I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J. B.R. Matthews, T. K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu and B. Zhou (eds.)]. Cambridge University Press. In Press. 2021.
 116. IPCC, Europe. In: *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. 2014.
 117. KNMI, Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut. *Klimaatdashboard*. Te vinden op: <https://www.knmi.nl/klimaatdashboard>. 2021.
 118. KNMI, Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut. *Uitleg over extreme neerslag*. <https://www.knmi.nl/kennis-en-datacentrum/uitleg/extreme-neerslag>. 2021.
 119. STOWA, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer. *Neerslagstatistiek en -reeksen voor het waterbeheer. Rapport 2019-19*. 2019.
 120. KNMI, *Weerstatistieken De Bilt - Maandgemiddelde temperaturen*. <https://weerstatistieken.nl>. 2021.
 121. Liu, C. and H.J. Van der Fels-Klerx, *Quantitative Modeling of Climate Change Impacts on Mycotoxins in Cereals: A Review*. Toxins, 2021. **13**(4): p. 276.
 122. Bailly, S., et al., *Occurrence and Identification of Aspergillus Section Flavi in the Context of the Emergence of Aflatoxins in French Maize*. Toxins, 2018. **10**(12): p. 525.
 123. Levic, J., et al., *An Outbreak of Aspergillus Species in Response to Environmental Conditions in Serbia*. Pesticidi i fitomedicina, 2013. **28**: p. 167-179.

Wageningen Food Safety Research
Postbus 230
6700 AE Wageningen
T 0317 48 02 56
wur.nl/food-safety-research

WFSR-rapport 2022.003



De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.800 medewerkers (6.000 fte) en 12.900 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen Food Safety Research
Postbus 230
6700 AE Wageningen
T 0317 48 02 56
wur.nl/food-safety-research

WFSR-rapport 2022.003

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.800 medewerkers (6.000 fte) en 12.900 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

