

Inventering av axfusarioser och fusariumtoxiner i höstvet och vårvete

Förord

Projektet "Inventering av axfusarioser och fusariumtoxiner i höstvet" startade våren 2005 och avslutades hösten 2009 och har alltså förlängts med två år. Vissa analyser av vårvete som bekostats av Jordbruksverket har också inkluderats och för projektets sista år, 2009, har även SLF bekostat en del vårveteanalyser. Orsaken till att bredda undersökning till vårvete var att vi 2008 fann betydligt högre toxinhalter i vårvete än i höstvet, vilket även noterades 2009. När det gäller vädermodeller för riskvärdering har samarbeten etablerats med andra projekt under projektets genomförande, vilket redovisas i bakgrunden.

Bakgrund, samarbeten med andra projekt

EU-kommisionen har för spannmål avsett för humankonsumtion fastställt gränsvärden för mykotoxiner bildade av mögelsvampar ur släktet *Fusarium*. Högsta tillåtna halter är för vete 1250 µg/kg för deoxynivalenol (DON) och 100 µg/kg för zearalenon (ZEA). Gränsvärdena för mjöl och cerealiebaserad barnmat är betydligt lägre, 750 respektive 200 µg/kg när det gäller DON och 50 respektive 20 µg/kg när det gäller ZEA. För T-2 och HT-2 finns ännu inga gränsvärden, men de förväntas bli fastställda under 2011. Troligen kommer gränsvärdet att ligga på 500 µg/kg för summan av T-2 och HT-2.

En utvärdering av fusariumtoxiner i foder har också gjorts och det finns idag rekommenderade värden för foder men inga gränsvärden. Man har här satt ett relativt högt rekommenderat värde för foder generellt på 8000 µg/kg för DON och 2000 µg/kg för ZEA.

Känsligheten varierar mellan djurslagen och särskilt för svin är kraven strängare. För helfoder eller tillskottsfoder till svin är gränsvärdet för DON 900 µg/kg och motsvarande siffra för ZEA är 250 µg/kg (EU-kommisionen, 2006). Det finns alltså all anledning att inte bara konstatera att man ligger över eller under ett visst gränsvärde, utan göra djupare studier när det gäller vilka faktorer som spelar störst roll för toxinnivåerna.

Orsakerna till att studierna koncentrerats på vete beror på att man under det tidiga 2000-talet funnit de högsta halterna DON och ZEA i vete. Vi valde att basera studien på att göra kompletterande analyser av spannmålsprover från befintliga fältförsök. Detta är kostnadseffektivt eftersom försöken lagts ut av andra orsaker och det finns goda möjligheter att studera effekt av årsmån, plats, sort, bekämpningsstrategi och i viss mån effekt av jordbearbetning.

Framförallt sortens betydelse har kunnat studeras noggrant, där det årligen har funnits ett tiotal försök tillgängliga. Det har däremot varit svårare att få fram bra inventeringsmaterial när det gäller jordbearbetning och svamp bekämpning som kan förväntas ge effekt på *Fusarium*. Det är framförallt sen bekämpning med vissa triazoler i samband med blomning (Simpson, m.fl., 2001) som kan tänkas motverka fusariuminfektion och därmed mykotoxinbildning och antalet sådana försök har varit begränsat.

Förutom kartläggning av *Fusarium*-toxiner har även en inventering av de förekommande *Fusarium*-arterna gjorts. Inventeringen av förekommande svamparter gjordes både med hjälp av molekylära metoder och traditionella metoder. Dels sändes prover på ett urval av veteproverna till Plant Research International i Holland. Dessutom har vi samarbetat med Livsmedelsverket som med hjälp av material från projektet bedrivit metodutvecklingsarbete inom området (Fredlund m. fl., 2008). Inom ramen för detta samarbete har vi även studerat förekomsten av toxinbildande svampar före skörd. Resultaten från de DNA-baserade metoderna har också kunnat bekräftas med hjälp av traditionella metoder som isolering på agar media och artbestämning under mikroskop.

Graderingar har endast utförts i begränsad omfattning, se nedan. En uppföljning av graderingsarbetet har dock gjorts inom ramen för det pågående SLF-projektet "Pilotprojekt för provning av vete- och rågvetesorters fusariumkänslighet" (H0860020), där vi även fått fram intressanta jämförelser mellan gradering och toxinnehåll.

I vår projektplan upptas att upprätta riskvärderingssystem baserade på väderdata för svenska förhållanden. Data har också samlats in, men utvärderingen sker inom ramen för SAFEFOODERA-projektet "Effects of climate change on emerging natural toxins in plant and seafood production", EMTOX. Här är målsättningen att studera möjligheten att ta fram ett riskvärderingssystem som kan användas för hela norra Europa. Utförliga resultat från dessa undersökningar finns inte framme ännu, utan vi nöjer oss här med att redovisa hittills erhållna resultat översiktligt.

Ett samarbete har även påbörjats med Livsmedelsverket via projektet MSB-klimat – Nationell Samverkan kring klimatrelaterad smittspridning av mykotoxiner. Inom ramen för detta projekt har utvärderingar av svenska

värdedata kopplat till främst DON-förekomst genomförts och inventeringen av *Fusarium*-toxiner kommer att fortsätta även 2010.

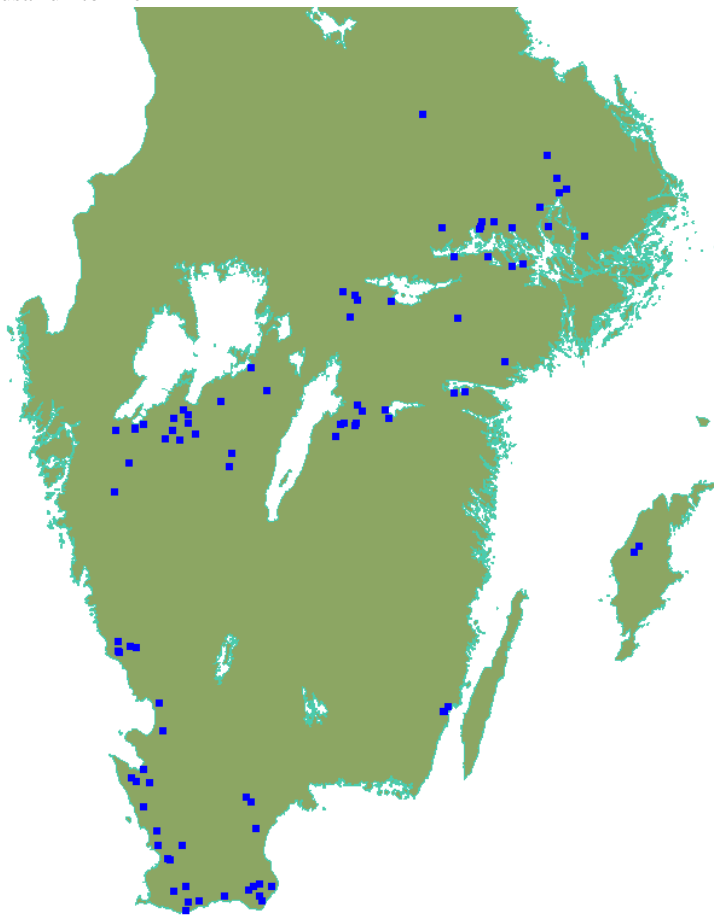
Material och metoder

Provmaterial

Studier pågick under 5 växtodlingssäsonger, 2005-2009. Vårvete togs med under säsongerna 2008 och 2009. Totalt har 318 veteprover ingått fördelade på 172 försök, varav 277 höstveteprover. Av höstveteproverna var huvuddelen sortförsök, 73 stycken. Av de övriga var 55 växtskydds-försök och 17 jordbearbetningsförsök. När det gäller vårvete togs prover ut endast från 19 sortförsök ur serien L7-301, sorterna Vinjett och Triso. Prover har analyserats i två omgångar per år med avseende på toxiner. Först har en omgång analyserats där en mätarsort (Harnesk eller Gnejs när det gäller höstvete) från 10-15 platser tagits ut. I första hand har svampbehandlade led i sortförsök av vete tagits ut. Några obehandlade led från bekämpningsförsök och led med kraftigt begränsad jordbearbetning, ofta direktsådd, togs också ut. Efter att svaren från dessa analyser erhållits sändes en andra omgång prover in för analys, där vi koncentrerade analyserna till platser med förhöjda toxinhalter för om möjligt kunna hitta några skillnader i sort eller behandling. Det finns således mer data från försök på platser med högre halter fusariumtoxiner än från platser med lägre halter. På ett urval av proverna har mikrobiologiska analyser utförts (se nedan) efter det att resultaten från toxinanalyserna funnits tillgängliga.

Proverna bestod av skördad och torkad vara från de olika försöken och ombesörjdes av respektive Hushållningssällskap i den ordinarie kvalitets- och skördemätningen. Proverna förvarades och delprov togs ut av Agrilab Uppsala och HS Skara. Ledvisa analyser utfördes alltid och i de fall då man ville spara rutvisa analyser för framtiden, tillverkades ledvisa prover genom att ta ut en mindre provmängd från varje ruta som sedan blandades samman.

Försöksplatserna valdes så att de viktigaste odlingsområdena i Sverige var representerade (Figur 1). På vissa av platserna har försöken återkommit varje år och man kan här studera årsmånsvariationerna när det gäller Fusariumtoxiner



Figur 1. Geografisk fördelning av de försök som ingått i undersökningen.

För att följa infektionsförloppet och göra en tidig prognos av en infektion av *F. graminearum* och *F. culmorum* togs axprover ut vid axgång och vid mognad 2009. Totalt togs prover ut från 6 sortförsök från serien L7-301 med vårvete och 7 sortförsök med höstvete ur serien L7-101.

Från dessa försöksplatser togs även under våren jordprover som representerade hela matjordsskiktet för att undersöka möjligheten av analysera eventuell jordsmitta av *Fusarium*. Jordproven förvarades svalt tills de sändes in till AgriLab i början av juni och där sållades jordarna först genom ett 8 mm såll och därefter genom 2 mm såll. Därefter bestämdes ts-halten och minst 100 g jord levererades till Inst. för Mikrobiologi. Jordarna hölls kallt före och efter sållningen.

Därefter gjordes extraktion av jordarna enligt Martin-Laurent m.fl., (2001) och extrakten hämtades sedan av personal från Livsmedelsverket. På Livsmedelsverket utfördes TaqMan PCR-amplifiering för bestämning av svamp-DNA per gram vete enligt Fredlund m.fl., (2008).

Jordprovernas innehåll av DNA från arterna *F. graminearum* och *F. culmorum* analyserades. Axprover togs ut mellan axgång och blomning. Detta stadium valdes eftersom det vid snabbanalys av förekomsten av *Fusarium*infektion skulle vara möjligt att utföra fungicidbekämpning i samband med blomning. Axproverna torkades i rumstemperatur innan de sändes in till Livsmedelsverket. Från tre vårveteförsök togs dessutom ax ut cirka 1 månad före skörd för att studera möjligheten att vid detta stadium få en förvarning om höga toxinhalter vid skörd.

Registrering av fältdata

Sort, bekämpning, jordbearbetning och förfrukt har registrerats för de allra flesta försöken. Dessutom finns data på kvävegödsling och jordart för flertalet. Tidpunkter för sådd och skörd finns för samtliga, medan tidpunkter för olika utvecklingsstadier har noterats mer sporadisk. I flera fall har dock inte blomningstid noterats i det enskilda försöket, men det har då gått att approximera blomningstiden med hjälp av datum för tidigare utvecklingsstadier och blomningstider för regionen som noterats av Jordbruksverket.

Analys

Alla toxinanalyser på vete utfördes av Aarhus universitet med LC-MS metodik (Fredlund m.fl., 2008). De toxiner som bestämdes var DON, NIV, ZEA, T-2 och HT-2. Kvantitativa PCR-analyser (TaqMan ®) på vete utfördes dels på Plant Research International (PRI), Wageningen, Holland och dels av Livsmedelsverket (Waalwijk m.fl., 2004; Fredlund m.fl., 2008). PRI analyserade ett urval om 20-40 prover per år och totalt analyserades 123 prover i projektet. Livsmedelsverkets arbete koncentrerades till 31 prover från 2006. Ett urval av 21 prover analyserades av båda labben. De arter vars DNA kvantifierades med PCR-metodik av PRI var *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* och *F. avenaceum*. Dessutom ingick *Microdochium nivale*.

Mikrobiologiska analyser med traditionell metodik utfördes av Lars Persson. Detta gjordes dels för att bekräfta PCR-analyserna, men även för att se om det fanns andra arter av *Fusarium* än de som undersöktes med PCR. Analyserna utfördes totalt på 71 prover 2005-2006. I viss omfattning gjordes även analysen före skörd på ax och strå med symptom av fusarios för att få en tidig förvarning om på vilka platser angreppen var aktuella. Isoleringar och renodlingar gjordes på potatisdextrosagar (PD- agar) och en näringsfattig agar (SNA). Kärnor (15-20 st) med missfärgning lades på PD-agar och efter några dagars tillväxt i rumstemperatur gjordes vid behov en renodling på PD- och SNA-agar. Från axen togs skärmfjäll med symptom av angrepp vilket bestod av rödfärgad pigmentering och/eller myceltillväxt. Arterna identifierades utifrån färg på mycelet, tillväxthastighet, sporform och sporstorlek (Leslie m.fl., 2006).

Graderingar

En metodbeskrivning togs fram baserad på danska erfarenheter, där andelen infekterade småax bedöms om de är någorlunda kraftiga genom att man plockar ut och räknar infekterade småax i 20 slumpmässigt uttagna ax i parcellen. Är infektionsgraden lägre kan man istället direkt räkna antalet infekterade småax på en viss yta. Med kännedom om antalet småax per ytenhet kan infektionsgraden bestämmas. Metoden testades på ett begränsat antal platser främst under projektets första år då angreppen var relativt stora. Totalt graderades år 2005 6 st. sortförsök och 19 st. övriga försök och dessutom 1 försök 2007. Metoden användes även följande år, men gav väldigt små utslag beroende på svaga angrepp.

Väder

Data har erhållit dels från SMHI via Livsmedelsverket och dels från LantMets väderstationer, beroende på vilken station som befann sig närmast försöket. För att beakta väderdata i sammanställningen har de registrerats högst 20 km från försöket. Data finns för huvuddelen av försöken och ett dataset med 130 prover har utvärderats översiktligt av Mats Lindblad, Livsmedelsverket och Oleif Elen, Bioforsk, Norge. Fortsatta utvärderingar kommer att göras inom ramen för EMTOX och MSB projekten enligt ovan.

Statistiska analyser

ANOVA analyser för att studera statistiska samband har utförts av Michaela Baumgardt, HIR Malmöhus dels med hjälp av programvaran MiniTab 15 (MiniTab Inc.) och dels med ARM 7 (Gylling Data Management, Inc.) Mats Lindblad, och Oleif Elen har båda använt sig av multipel linjär regression med hjälp av programvaran MiniTab.

Resultat

Fusariumtoxiner

Bäst statistiskt underlag finns för DON medan de övriga toxiner oftare förekommit i halter under detektionsgränsen. För DON var 34 % av analyserna under detektionsgränsen medan motsvarande siffror för NIV var 58%, för ZEA 61% och för T2 och HT2 mer än 90%. Korrelationerna mellan förekomst av de olika toxinerna var också varierande: Högst korrelation var det som väntat mellan DON och ZEA ($r = 0,54$) eftersom båda dessa toxiner bildas av samma art; främst *F. graminearum* men i viss mån även av *F. culmorum* (WHO, 2001). I övrigt var korrelationerna under 0,3. Utvärderingen kommer därför att koncentreras till DON med endast några jämförande kommentarer när det gäller ZEA. Totalt förekom endast 10 fall med överskridande av gränsvärdet när det gäller DON, varav 4 i höstvetete och 15 när det gäller ZEA, varav 11 i höstvetete. NIV är av mindre intresse eftersom inga gränsvärden diskuterats och när det gäller T-2 och HT-2 var andelen värden över detektionsgränsen alltför lågt och det högsta noterade värdet var så lågt som 65, långt från föreslagna gränsvärden.

DON

Under åren 2005-2009 har halterna av DON varierat med något högre värden de båda första åren (Tabell 1).

Tabell 1. Andel (%) fältförsök inom varje klass av DON-innehåll för hela inventerade området uppdelat på respektive år

DON-klasser ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2005	2006	2007	2008	2009
Antal prov	90	68	71	23	47
			%		
<10	30	41	30	65	21
10-199	39	40	59	35	68
200-749	22	7	10	0	6
750-1250	9	7	1	0	0
>1250	0	3	0	0	4
Medel ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	214	172	100	16	191

Signifikanta skillnader förekom mellan 2005 och både 2007 och 2008. Andelen prover som överskridit gränsvärdet ($1250 \mu\text{g}/\text{kg}$) har varit mycket lågt (Tabell 1). Ganska tydliga skillnader mellan regioner har noterats, med något högre andel prover över detektionsgränsen för DON på $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ i Närke, Halland och Skåne jämfört med Mälardalen och Östergötland. Västergötland intar en mellanställning (Tabell 2).

Tabell 2. Andel (%) fältförsök höstvetete inom varje klass av DON-innehåll under åren 2005-2009 för hela inventerade området och för respektive odlingsområde

DON-klasser ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Hela landet	Mälardalen ¹	Närke ²	Östergötland ³	Västergötland ⁴	Halland ⁵	Skåne ⁶
Antal prov	299	38	13	43	59	47	88
	%						
<10	34	74	15	49	32	4	27
10-199	48	24	77	37	51	57	52
200-749	12	3	8	5	8	19	19
750-1250	5	0	0	9	5	13	1
>1250	1	0	0	0	3	4	0
Medel ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	159	16	98	155	212	333	121

¹ Län B, C, D, T, U, ² Län T, ³ Län E, ⁴ Län H, P, R, ⁵ Län LM, ⁶ Län N

De högsta värdena hittades i Västergötland och Halland. Om man studerar alla data med alla försökstyper finner man inga samband mellan jordbearbetning och DON-halt (Tabell 3).

Tabell 3. Andel (%) fältförsök inom varje klass av DON-innehåll under åren 2005-2009 för grupperna plöjning och reducerad jordbearbetning

DON-klasser ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Plöjning	Reducerad jordbearbetning
antal	147	111
prov		
	%	
<10	33	35
10-199	47	48
200-749	14	11
750-1250	5	5
>1250	0	2
Medel ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	153	142

Om man däremot endast studerar jordbearbetningsförsöken, finns ett tydligt samband, dock ej statistiskt säkerställt, mellan förhöjd DON-halt och reducerad bearbetning. I nio försök från Halland (5), Skåne (2) och Västergötland (2) var medelvärdet för leden med reducerad bearbetning 924 $\mu\text{g}/\text{kg}$ medan medelvärdet i plöjda led var 641 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Att halterna var så pass höga beror på att de flesta försöken låg i ett område i Halland med ovanligt högt smittryck. Skillnaden mellan de båda jämförelserna kan förklaras av att man ofta använder reducerad bearbetning i Mälardalen, men att man där har ett lågt smittryck av DON-producerande svampar. En annan kan vara att det finns samvariation mellan förfrukt och jordbearbetning. Om man enbart studerar försök med höstvetete som förfrukt var det en liten skillnad mellan reducerad bearbetning och plöjning (medel för reducerad bearbetning var 191 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($N = 45$) och för reducerad bearbetning 137 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($N = 19$).

När det gäller utvärdering av bekämpningsförsök kan man konstatera ett visst samband mellan sen bekämpning med Proline (Protioconazol) och sänkt DON-halt. I 8 växtskyddsförsök analyserades både obekämpat led och bekämpning med Proline (0,6 l/ha) i stadium DC 65. Skillnaden var tydlig: medelvärdet för obekämpade led var 98 $\mu\text{g}/\text{kg}$, medan den var 38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i bekämpade led. I ett par fall med toxinhalter över 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ var effekten ännu tydligare.

Sortskillnaderna i DON-halt var betydande både om man studerar alla ingående analyser och om man endast studerar sortförsöken. Statistiskt säkra skillnader fanns dock endast mellan Olivin och Harnesk respektive Opus. Olivin hade signifikant ($p < 0,5$) lägre DON innehåll jämfört med Harnesk och Opus då tio sortförsök där alla tre sorterna var med jämfördes. Medelvärdet var här 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ för Olivin, för Opus 357 $\mu\text{g}/\text{kg}$ och för Harnesk 344 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Även sorterna Gnejs, Kris och Tulsa hade klart högre om än inte signifikant högre halter än Olivin i andra försök där dessa sorter förekom. Olivin var också den sort som hade lägst andel prov över detektionsgränsen.

För vårvete fanns en tydlig skillnad mellan Triso och Vinjett, där Vinjett i genomsnitt för 17 analyser fördelade på 12 olika försök låg på hela 1743 $\mu\text{g}/\text{kg}$, vilket var betydligt högre än Triso med medelvärdet 1220 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Här var skillnaden också statistiskt signifikant ($p < 0,05$). Att medelvärdet är så högt beror framförallt på ett försök i Västergötland 2009 med extremt höga halter, som högst 12700 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Endast i 3 fall låg Vinjett över gränsvärdet på 1250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ och i 2 fall låg Triso över detta värde.

Förfrukten har också betydelse för DON-halterna, men för flera av förfrukterna finns för få observationer för att man skall få fram säkra resultat (Tabell 4). Olika platser har också varierande mängd inokulum vilket påverkar infektionen. Dock kan man konstatera att högst andel värden över 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ noterats med höstvetete som förfrukt. För de förfrukter med mer än 10 observationer var medelvärdet också högst med höstvetete som förfrukt (185 $\mu\text{g}/\text{kg}$) medan lägst medelvärde noterades med korn som förfrukt (61 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Men inga statistiskt säkra skillnader noterades.

Tabell 4. Antal (%) fält inom varje klass av DON-innehåll under åren 2005-2009 för olika förfrukter

DON-klasser (µg/kg)	Höst vete	Höst raps	Korn	Havre	Socketbet or	Vall	Vårraps	Vårvete	Ärtor
antal prov	69	40	34	58	8	9	14	3	32
	%								
<10	43	28	38	31	38	33	43	0	25
10-199	36	45	59	49	63	67	50	33	50
200-749	9	20	3	14	0	0	7	67	22
750-1250	10	5	0	5	0	0	0	0	3
>1250	1	3	0	0	0	0	0	0	0
Medel (µg/kg)	185	180	61	152	45	28	74	199	156

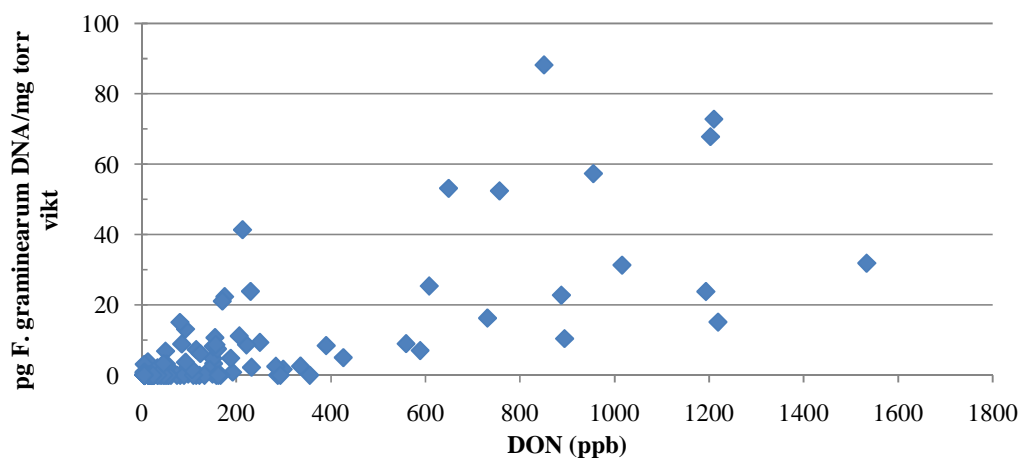
Skillnader i DON-förekomst beroende på jordart noterades också. Höstvete från jordar som dominerades av mjäla och lättmo (2-60 mm, N = 25) hade en genomsnittlig DON-halt på 193 µg/kg medan gruppen med mindre än 30% av denna fraktion (sandiga jordar och styva leror, N =40) hade en medelhalt på 39 µg/kg.

ZEA

Eftersom ZEA och DON produceras av samma art (*F. graminearum*) är mönstret i förekomst liknande. Prover med ZEA över detektionsgräns fanns från Skåne (40 %), Halland (79 %), Västergötland (37 %) och Mälardalen (21 %). Inga prover med ZEA över detektionsgräns hittades i Närke eller Östergötland trots att *F. graminearum* hittades både med PCR och med traditionell teknik. Värden över gränsvärdet på 100 µg/kg noterades framförallt från Halland 2006 och var tydligt kopplat till höga DON-halter.

Identifiering av *Fusarium*-arter och fältgraderingar kopplat till DON

Resultaten av PCR-analyser av ett antal olika *Fusarium*-arter och DON visar tydligt att *F. graminearum* är den dominerande DON-producenten i svenskt vete. De prover med hög koncentration DNA från *F. graminearum* innehöll även höga halter av DON (Figur 2). Korrelationskoefficienten mellan DON och *F. graminearum*-DNA var inte så hög i detta material (0,43), men nära noll för övriga undersökta arter. Den var dock så hög som 0,95 i det material om 31 prover från 2006 som analyserats av Livsmedelsverket (Fredlund m.fl., 2008). Bland de prover som analyserats med båda metoderna var korrelationen 0,93 för Livsmedelsverkets metod och 0,67 för PRIs metod. Korrelationen mellan metoderna var 0,81.



Figur 2. Samband mellan koncentrationen av DON och mängden DNA av *F. graminearum* för 122 olika höstveteförsök (sort, fungicid och jordbearbetning) i Sverige under åren 2005-2009.

Isolering och identifiering på agar visar också att för de prov där *F. graminearum* har hittats är medelvärdet för DON väsentligt högre än för de prov där arten inte hittats. Skillnaden i medelvärde för DON är inte lika stor för prover där *F. culmorum* har hittats. Även för andra arter som *F. poae* och toxinet NIV fanns ett liknande förhållande där prover med förekomst av arten hade högre genomsnittligt toxininnehåll (Tabell 5).

Tabell 5. Kolonier av respektive *Fusarium*-art på PD-agar och koncentration av toxiner i 71 höstveteprov 2005-2006

Art	Isolering på PD-agar ¹	Toxininnehåll µg/kg, medelvärde		
		DON	ZEA	NIV
F.graminearum	Nej	105 (55) ²	4 (55)	- ³
	Ja	599 (16)	51 (16)	-
F.culmorum	Nej	214 (62)	-	-
	Ja	233 (9)	-	-
F.poa	Nej	-	-	15 (41)
	Ja	-	-	24 (30)

¹ Potatisdextros-agar; 20 kärnor per prov, ² Antal prov i varje grupp

³ Toxin ej producerad av respektive art

I specialstudien som gjordes 2009 tillsammans med Livsmedelsverket kunde varken *F. graminearum* eller *F. culmorum* detekteras i något av jordproverna beroende på hämmande ämnen i DNA extraktionerna av jorden vilket betyder att vi inte kan säga något om förekomsten av dessa arter i jordproverna. Inte heller något av axproverna uttagna mellan axgång och blomning var positivt för någon av *Fusarium*-arterna. Däremot var två av de tre axproverna som togs ut ca. en månad före skörd positiva för *F.graminearum* medan samtliga var negativa för *F.culmorum*. Alla kärnprov innehöll DNA från *F. graminearum* eller *F. culmorum* men ett prov var negativt för *F. graminearum* och två prover var negativa för *F. culmorum*. Ett tydligt samband mellan mängden DNA av *F. graminearum* en månad före skörd och mängden DNA av *F. graminearum* vid skörd konstaterades. Det var också ett tydligt samband mellan mängden DNA av *F. graminearum* och DON-halterna vid skörd. Studierna av prover uttagna ca. en månad före skörd fortsätter 2010.

Den högsta noteringen för axfusarios under projektet i Skåne var motsvarande 0,062 angripet småax per m² vilket förekom i sorten Hurtig i sortförsöket med ADB-nummer 07B533 beläget i Nordvästra Skåne. DON-innehållet för denna sort var 234 µg/kg kärna. Det högsta DON-innehållet i detta försök var 1193 µg/kg kärna men här var angreppet endast 0,009 % angripna småax. Det högsta DNA-innehållet i detta försök var 25,4 pg/mg kärna av *F.graminearum* i sorten Harnesk, men inget synligt angrepp hade registrerats för denna sort. År 2007 förekom det tydliga angrepp i sortförsöket 07B985 som låg på samma plats som 07B533. Denna gång dominerade *M. nivale* vilket konstaterades både med PCR uppmätt av PRI och traditionell metodik och inget DNA från *F.graminearum* eller *F.culmorum* uppmättes. DON förekom i halter upp till 166 µg/kg. Detta tyder på att PCR-metoden inte är tillräckligt känslig. Vid så höga DON-halter förekom alltid *F.graminearum* eller *F.culmorum* DNA när det gäller Livsmedelsverkets analys.

Risikvärdering med hjälp av väderdata

Tydliga samband mellan nederbörd strax före och i samband med blomning, men även strax före skörd iakttofs. I en preliminär körning med data från 2005-2007 gav en förklaringsgrad på ca. 50% genom att använda vädervariabler för prediktion av DON. I detta fall användes data för nederbörd under perioden fr.o.m. 2 veckor före blomning, blomningsperioden och veckan före skörd. En preliminär körning med 130 prover från samtliga år har inte gett lika bra resultat.

Diskussion

Den DON-producerande arten *F. graminearum* hittades i hela det inventerade området, från Skåne upp till Mälardalen och Närke, något som var ökänt innan projektet startade. Den andra DON-producenten, *F. culmorum*, hittades också i alla områden, men den förefaller ha mindre betydelse för höga koncentrationer av DON jämfört med *F. graminearum*. Liknande resultat har rapporterats från andra länder i norra Europa som Danmark och Norge (Kosiak et al., 2003; Rasmussen et al., 2003). Brittiska undersökningar visar på tydliga regionala variationer liksom holländska (Jennings och Humphries, 2009; Waalwijk et al., 2003). Det tydliga sambandet ($r = 0,95$) som visats i (Fredlund et al. 2008) mellan den kvantifierade förekomsten av *F. graminearum* analyserat med realtids PCR och DON tyder på att denna art är klart viktigast. Sambandet var inte alls lika bra när det gäller *F.culmorum* ($r=0,45$). Sambandet var betydligt sämre i vår studie vilket sannolikt till största delen beror på att metoden som använts av PRI är mindre känslig, men till viss del kan det bero på att materialet är mer heterogent då det samlats in under 5 år.

Viktigt för uppkomsten av axfusarios är väderförhållanden och i liknande undersökningar har 48 % av variationen i DON förklarats av denna faktor (Schaafsma och Hooker, 2007) vilket är jämförbart med vad som uppnått i denna undersökning.

En viktig faktor för uppförökningen av *F. graminearum* är förfrukten (Koch m.fl., 2006). I materialet var höstvetet förfrukt i de prover som givit de högsta DON-värdena. Men även höstraps förekom som förfrukt till prover med höga DON-värden. Anledningen till detta kan bl. a. bero på ett mindre behov av jordbearbetning inför rapsådd vilket ger en liten nedbrytning av skörderester och svampsporer, men också att höstraps är en vanlig gröda i vetedominerade växtföljder. Däremot gav vårkorn som förfrukt prover med låga DON-värden. Danska studier har också visat på en något förhöjd risk med höstsäd som förfrukt jämfört med vårsäd. Majs är en annan förfrukt som är känd för att angripas av fusarioser (Koch m.fl., 2006), men den förekom inte i något av försöken. Men eftersom den ökar stort bl. a. som vallfoder kommer betydelsen sannolikt att öka i framtiden. För att få bra värden på förfruktens påverkan på axfusarioser bör man antingen göra regelrätta växtföljdsförsök eller öka antalet prov.

Effekten av jordbearbetning på DON-halten var ganska liten; det var något fler prov med halter över gränsvärdet vid reducerad jordbearbetning jämfört med plöjda försöksplatser. Däremot gav plöjningsfritt högre DON-halt jämfört med normalplöjning vid analys av enbart jordbearbetningsförsök. Reducerad jordbearbetning ökar risken för förhöjda DON-halter men inte alltid eftersom graden av inblandning av jord och nedbrytning av halmen är den faktor som bestämmer. Detta kan ibland vara bättre i reducerade jordbearbetningssystem vilket ger en snabb nedbrytning av svampsporer (Dill-Macky, 2008).

Effekten av en sen bekämpning (DC 65) med en triazol (Proline) har visat sig ge en viss bekämpande effekt. Även användning av Proline i tidigare stadier gav en sänkning av DON-halterna, men tyvärr finns inte tillräckligt underlag för att kunna värdera de olika strategierna mot varandra. Osäkerheten i åtgärden styrs av svampens biologi och väderförhållanden vid infektionen vilket kan ge utebliven effekt. Ibland kan effekten bli den motsatta och ge högre toxinhalter (Muellenborn et al., 2008) beroende på olika påverkan på olika arter i *Fusarium*-komplexet. Val av preparat är av avgörande betydelse. Vissa Triazolter tycks hämma *Fusarium* mer än andra arter medan det omvända tycks vara fallet med strobiluriner (Simpson, m.fl., 2001).

Effekt av en sen bekämpning med Proline på *Fusarium*förekomsten har även konstaterats i våra grannländer (Oleif Elen, Lise Nistrup Rasmussen, pers. komm).

En viktig fråga för odlarna är om det finns sortskillnader i mottaglighet för axfusarios, vilket är en viktig faktor i modeller för axfusarioser i majs och vete (Schaafsma and Hooker, 2007). Det var inte projektets huvudsakliga inriktning och upplägget var inte designat för detta, men vissa resultat kunde ändå analyseras fram. Det tydligaste var den låga halten av DON i sorten Olivin jämfört med andra sorter. Någon mer detaljerad ranking av sorter är inte möjlig att göra på detta material, eftersom sorterna som använts har varierat mellan försöken.

Det genomfördes endast ett fåtal graderingar av axfusarios med kompletterande analyser av toxiner och DNA av *Fusarium*. Den största orsaken var att angreppen var relativt svaga under tidsperioden. Ett problem med metoden är att symptomen kan avläsas endast under en mycket begränsad period, efter blomning men innan axen hunnit ljusna. Graderingsarbetet kräver också erfarenhet och det är svårt att lägga ut det på extrapersonal, vilket är en försvårande omständighet eftersom symptomen uppträder efter det att annat graderingsarbete är avslutat.

En huvudfråga har varit att få graderingar som är korrelerade till innehållet av toxin och då främst DON. Från de graderingar som har blivit gjorda kan konstateras att det är omöjligt att i fält särskilja exv. *M. nivale* och *F. graminearum*, vilket är nödvändigt eftersom den förra inte producerar något toxin. Man kan dock konstatera att toxinhalterna generellt var relativt höga i det försök där de kraftigaste angreppen iaktogs (07B533), men korrelationen mellan DON-halt och axfusarios var låg. Man skulle dock kunna använda graderingar som en mer generell värdering av risken för höga DON-halter på fältet eller kanske t.o.m. i området.

I axproven som togs ut en månad före skörd korrelerade svampförekomst väl mot förekomsten av arten vid skörd. Detta är mycket intressant och borde kunna bli en tillämpbar prognosmetod för DON i den skördade produkten. Detta arbetas vidare med i en utökad studie 2010.

Undersökningen gav en god överblick om läget i det svenska odlingsområdet. Men det finns många frågetecken kring *Fusarium*-arternas biologi och hur infektionen påverkas av årsmån och väderlek vid infektionstillfället. Det tycks inte som om förekomsten av *F. graminearum* generellt sett ökat i Sverige under perioden som projektet pågått, men däremot tycks en spridning norrut ha skett. Holländska undersökningar tyder på en förändring i artsammansättning under de senaste tio åren från en dominans av *F. culmorum* till ökad närvaro av *F. graminearum* (Waalwijk et al., 2003) och det spekulerades i att högre temperaturer skulle vara orsaken. Men andra faktorer som har förändrats mer är växtföljder från varierade med stor artvariation, ofta med vall, till mer ensidiga och spannmålsdominerade. Även jordbearbetningen har förändrats till en mindre energikrävande med mindre jordinblandning i skörderesterna vilket ger mindre nedbrytning av svampsporer. En viktig spridningsväg är antagligen luftburna ascosporer, som bl. a. har hittats i ett inokulerat försök i Skåne (M. Baumgardt, pers. komm.), men även andra spridningsvägar genom exv. utsäde är möjliga (Schaafsma och Tamburic-Ilincic,

2005). Globalt och historiskt sett har axfusarioser förekommit i epidemier undre lång tid bl. a i Kina och USA. Det kommer att bli mycket viktigt att följa utvecklingen i takt med att majsodlingen ökar i Sverige. En intressant faktor är också jordarten och även i Norge har man konstaterat att mo-mjälajordar kan utgöra en riskfaktor. Teorin är att de är vattenhållande och därmed gynnsam miljö för uppförkning av inokulum.

Resultatförmedling till näringen

Resultat från projektet har fortlöpande rapporterats på regionala växtskyddskonferenser och dessutom har arbetet presenterats i form av en poster på European Fusarium Seminar 9, 2006, Wageningen, Holland.

Slutsatser

- *Fusarium graminearum* är den art som sannolikt är huvudproducenten av DON i Sverige och svampen finns i hela svenska veteodlingsområdet.
- DON-halterna är något högre i prover från Västergötland och Halland.
- Den tydliga kopplingen mellan *F. graminearum* och framförallt DON gör att en kartläggning av denna svamp kan vara ett viktigt redskap för riskvärdering för höga toxinhalter vid skörd.
- Vid relativt låg grad av infektion är sambandet mellan fältgradering och toxinhalt liten.
- Höstvete som förfrukt gav prover med höga DON-halter och vårkorn gav låga halter.
- I jordbearbetningsförsök gav reducerad jordbearbetning högre DON-halt än plöjda led.
- Vissa sortskillnader kunde urskiljas och DON-halten var lägst i Olivin.
- En sen Proline bekämpning (DC 65) gav en sänkning av DON-halterna.
- Samband mellan höga DON-halter och mo-mjälajordar.
- Årsmånen, till stor del kopplat till nederbörd vid blomning och strax före skörd, har också betydelse för förekomsten av Fusariumtoxiner.
- Förekomsten av *F. graminearum* i axprov som togs ut en månad före skörd korrelerade väl mot förekomsten vid skörd.
- Vårvete hade högre DON halter än höstvete de två åren då detta kunde jämföras (2008 och 2009).

Litteratur

Dill-Macky, R. 2008. Cultural control practices for fusarium head blight: Problems and solutions . Cereal Research Communications. 36 :653-657.

EU-kommissionen, 2006. Kommissionens förordning 1881/2006 om fastställande av gränsvärden för vissa främmande ämnen i livsmedel. Europeiska Unionens Officiella tidning L 364:5-24.

Fredlund, E., Gidlund, A., Olsen, M., Börjesson, T., Spliid, N.H., and Simonsson, M. 2008. Method evaluation of Fusarium DNA extraction from mycelia and wheat for down-stream real-time PCR quantification and correlation to mycotoxin levels. Journal of Microbiological Methods 73:33-40.

Jennings, P. och Humphries, G. 2009. Monitoring risks of mycotoxin contamination caused by fusarium head blight pathogens in winter wheat. HGCA-report 459.

Koch, H. J., Pringas, C., Maerlaender, B . 2006. Evaluation of environmental and management effects on Fusarium head blight infection and deoxynivalenol concentration in the grain of winter wheat. European Journal of Agronomy. 24:357-366.

Kosiak, B., Torp, M., Skjerve, E., and Thrane, U. 2003. The prevalence and distribution of *Fusarium* species in Norwegian cereals: a survey. Acta Agric. Scand., Sect. B, Soil and Plant Sci. 53: 168-176.

Leslie, J.F., Summerell, B.A., Bullock, S. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing. 388 pp.

Martin-Laurent, F., Philippot, L., Hallet, S., Chaussod, R., Germon, J.C., Soulas, G., and Catroux, G. 2001. DNA-extraction from soils: Old bias for new Microbial Diversity Analysis Method. Appl. Environ. Microbiol. 67:2354-2359.

Muellenborn, C., Steiner, U., Ludwig, M., Oerke, E.-C. 2008. Effect of fungicides on the complex of Fusarium species and saprophytic fungi colonizing wheat kernels. European Journal of Plant Pathology. 120:157-166.

Rasmussen, P. H., Ghorbani, F., Berg, T. 2003. Deoxynivalenol and other *Fusarium* toxins in wheat and rye flours on the Danish market. Food Additives and Contaminants. 20:396-404

Schaafsma, A. W., Tamburic-Ilincic, L. 2005. Effect of seeding rate and seed treatment fungicides on agronomic performance, Fusarium head blight symptoms, and DON accumulation in two winter wheats. *Plant Disease*. 89:1109-1113.

Schaafsma, A. W., Hooker, D. C. 2007. Climatic models to predict occurrence of Fusarium toxins in wheat and maize. *International Journal of Food Microbiology*. 119:116-125.

Simpson, D.R., Weston, G.E., Turner, J.A., Jennings, P. and Nicholson, P. 2001. Differential control of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *Eur. J. Plant Path.* 107:421-431.

Waalwijk, C., van der Heide, R., de Vries, I., van der Lee, T., Schoen, C., Costrel-de Corainville, G., Häuser-Hahn, I., Kastelein, P., Köhl, J., Lonnet, P., Demarquet, T., and Kema, G. 2004. Quantitative detection of *Fusarium* species in wheat using TaqMan. *European Journal of plant pathology* 110 (5-6): 481-494.

Waalwijk, C., Kastelein, P., de Vries, I., Kerényi, Z., van der Lee, T., Hesselink, T., Köhl, J., and Kema, G. 2003. Major changes in *Fusarium* spp. in wheat in the Netherlands. *European Journal of plant pathology* 109: 743-754.