

”Uudet” *Fusarium*-mykotoksiinit suomalaisessa viljassa

Marika Jestoi ja Meri Kokkonen

Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira), Kemian ja toksikologian tutkimusyksikkö,
Mustialankatu 3, 00790 HELSINKI, marika.jestoi@evira.fi

Erilaiset *Fusarium*- eli punahomeet ovat erittäin tavallisia lauhkean ilmastovyöhykkeen (mm. Pohjois-Eurooppa) viljoissa esiintyviä homeita. Punahomeisiin kuuluu useita homelajeja, jotka aiheuttavat erilaisia kasvitauteja. Patogeenisyytensä lisäksi useat punahomelajit kykenevät tuottamaan mykotoksiineja eli homemyrkyjiä.

Mykotoksiinit ovat homesienten myrkyllisiä aineenvaihduntatuotteita, joita esiintyy yleisesti mm. viljoissa ja viljatuotteissa. Mykotoksiineilla voi olla yksi tai useampi myrkyllinen ominaisuus, ja siten ne saattavat vaikuttaa haitallisesti ihmisten ja eläinten terveyteen. Akuutit mykotoksiinimyrkytykset ovat kuitenkin nykyisin erittäin harvinaisia.

Suurin osa mykotoksiinitutkimuksista on toistaiseksi keskittynyt ns. perinteisiin mykotoksiineihin, kuten aflatoksiineihin, okratoksiini A:han, zearalenoniin ja trikotekeeneihin. Suomen yleisimmän punahomeen – *Fusarium avenaceum* – ajateltiin pitkään olevan ei-toksinen homelaji, sillä se ei tuota näitä perinteisiä mykotoksiineja. Viimeaikaiset tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että *F. avenaceum* kykenee tuottamaan useita muita mykotoksiineja, esimerkiksi ns. uusia punahometoksiineja moniliformiinia (MON) ja enniatiineja (ENNs). Myös muut suomalaisessa viljassa yleisesti esiintyvät punahomelajit, kuten *F. tricinctum* ja *F. poae*, kykenevät tuottamaan näitä toksiineja. Lisäksi *F. sporotrichioides* ja *F. poae* tuottavat rakenteellisesti enniatiinien kaltaista beauverisiiniä (BEA).

Toistaiseksi uusien *Fusarium*-mykotoksiinien (BEA, ENNs, MON) esiintymisestä ja pitoisuustasoista eri viljalajeissa on suhteellisen vähän tietoa perinteisiin punahometoksiineihin verrattuna. Esimerkiksi julkaistuja ENNs-tutkimuksia on toistaiseksi tehty vain Suomessa ja Norjassa. BEA:n ja MON:n osalta tutkimuksia esiintymisestä ja pitoisuustasoista eri maissa on sen sijaan enemmän, ja niiden perusteella BEA ja MON ovatkin tavallisia viljan kontaminantteja maailmanlaajuisesti.

Moniliformiinin, enniatiinien ja beauverisiinin toksisuudesta on toistaiseksi hyvin vähän tietoa. Moniliformiinin on osoitettu eläinkokeissa olevan akuutilta myrkyllisyydeltään haitallisimpien trikotekeeni-mykotoksiinien (mm. HT-2 ja T-2 –toksiinit) tasoa. Enniatiinien ja beauverisiinin toksisuudesta ei toistaiseksi ole juurikaan tutkimustietoa *in vivo*, mutta niillä on osoitettu olevan mm. solutoksisia ja antimikrobisia vaikutuksia. Rakenteellisesti samankaltainen BEA on todettu toksikologisilta ominaisuuksiltaan enniatiineja myrkyllisemmäksi yhdisteeksi *in vitro* -olosuhteissa.

Tässä tutkimuksessa kehitettiin ”uusille” *Fusarium*-mykotoksiineille kemialliset määrittämenetelmät, joiden avulla niiden pitoisuuksia suomalaisissa viljassa kartoitettiin yhteensä yli 300 näytteestä vuosina 2001–2003 ja 2005–2006. Tutkimustulosten mukaan ”uudet” punahometoksiinit olivat erittäin yleisiä suomalaisessa viljassa: 90–100 % näytteistä sisälsi enniatiineja ja beauverisiiniä sekä 1–81 % näytteistä moniliformiinia, kasvukaudesta riippuen. Pääsääntöisesti yhdisteiden pitoisuustasot olivat kuitenkin pieniä, keskipitoisuuksien vaihdella välillä 15–3410 µg/kg. Enniatiineja todettiin huomattavan paljon osassa näytteitä - erityisesti sellaisissa, joiden sadonkorjuu oli viivästynyt myöhäiseen syksyyn. Ympäristöolosuhteilla, lähinnä kosteudella ja lämpötilalla, onkin erittäin suuri vaikutus viljan muodostuvien homemyrkyjen laatuun ja määrään, mikä oli nähtävissä myös tutkimusaineistossa pitoisuuksien vuosittaisena vaihteluna.

”Uusien” *Fusarium*-toksiinien esiintyvyydestä ja toksisuudesta tarvitaan lisää tutkimustietoa, jotta niiden merkitystä voidaan paremmin arvioida. Nykyisen toksikologisen tietämyksen perustella voidaan olettaa, että tutkimuksessa määritetyistä mykotoksiineista Suomen oloissa pienempinä pitoisuuksina esiintyvät beauverisiini ja moniliformiini eivät ainakaan yksinään aiheuta akuuttia uhkaa ihmisten ja eläinten terveydelle. Sen sijaan viljoissamme erityisen yleisesti esiintyvien enniatiinien toksikologiasta vaaditaan lisätutkimuksia, jotta niiden vaikutuksia voidaan arvioida mm. eläinten ravitsemuksen ja hyvinvoinnin kannalta.

Asiasanat: *Fusarium* spp., mykotoksiini, enniatiini, moniliformiini, beauverisiini

Johdanto

Fusarium-suvun homeet eli punahomeet ovat yleisiä viljan kasvipatogeeneja kaikkialla maailmassa. Ne aiheuttavat erilaisia kasvitauteja, jotka saattavat johtaa viljasadon ja –laadun heikkenemiseen ja siten myös merkittäviin taloudellisiin tappioihin. Yleisimpiä kasvitauteja aiheuttavia punahomelajeja pohjoisen pallonpuoliskon lauhkeilla ilmastovyöhykkeillä ovat mm. *F. graminearum*, *F. culmorum* ja *F. avenaceum* (Bottalico & Perrone 2002). Suomessa ja muissa Pohjoismaissa *F. avenaceum* on yleisin viljoissa esiintyvä punahomelaji (mm. Kosiak ym. 2003, Yli-Mattila ym. 2004). Muita Suomessa esiintyviä lajeja ovat mm. *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* sekä *F. langsethiae*. Kasvipatogeenisyytensä lisäksi useat *Fusarium*-lajit kykenevät tuottamaan homemyrkkyjä eli mykotoksiineja, jotka saattavat aiheuttaa terveydellisiä haittoja ihmisille ja eläimille. Nykyisten elintarviketieteen laatu- ja turvallisuusjärjestelmien ansiosta akuutit mykotoksiinien aiheuttamat terveydelliset haitat (ns. mykotoksisuus) ovat kuitenkin erittäin harvinaisia.

Fusarium-suvun homeiden tuottamiin mykotoksiineihin kuuluvat mm. trikotekeenit, zearalenoni ja fumonisiinit, joiden pitoisuuksille viljassa ja rehussa on viime vuosina asetettu EU:ssa lainsäädännölliset raja-arvot. Suomen yleisin punahome – *F. avenaceum* – ei kuitenkaan kykene tuottamaan näitä ns. perinteisiä mykotoksiineja. Pitkään *F. avenaceum*in ajateltiin olevan vain kasvipatogeeninen punahome, joka ei ole toksigeeninen eli mykotoksiini-tuottaja. 1990-luvun lopun tutkimukset antoivat kuitenkin viitteitä siitä, että tämä käsitys saattaisi olla virheellinen. Langseth ym. (1997) raportoivat *F. avenaceum*-saastuneiden viljojen suuren solutoksisuuden, joka ei ollut selitettävissä perinteisillä mykotoksiineilla. Lisäksi Logrieco ym. (2002) havaitsivat suuria mykotoksiini-pitoisuuksia (beauverisiini ja enniatiini) suomalaisissa vuoden 1998 ruisnäytteissä, jolloin viljoissa oli suuri *F. avenaceum*- mutta vähäinen trikotekeeni-saastunutta (Eskola ym. 2001). Viimeaikaiset tutkimukset ovatkin osoittaneet, että *F. avenaceum* kykenee tuottamaan useita erilaisia mykotoksiineja, joihin kuuluvat mm. moniliformiini (MON) ja enniatiini (ENNs), sekä joidenkin tutkimusten mukaan myös beauverisiini (BEA) (mm. Logrieco ym. 2002, Uhlig ym. 2006, Jestoi ym. 2007).

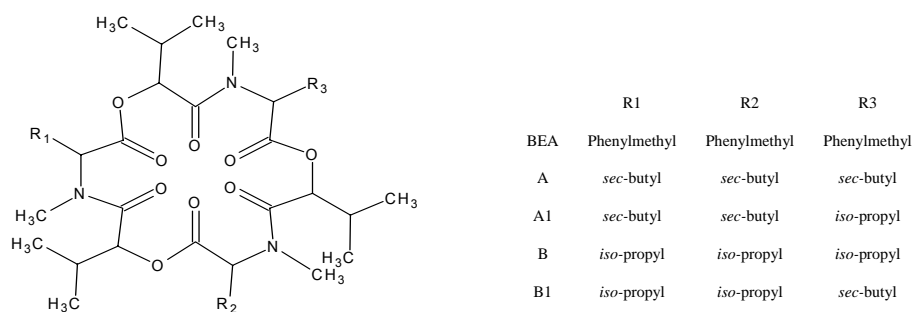
Toistaiseksi uusien *Fusarium*-mykotoksiinien (BEA, ENNs, MON) esiintymisestä ja pitoisuustasoista eri viljalajeissa on suhteellisen vähän tietoa perinteisiin punahometoksiineihin verrattuna. Esimerkiksi julkaistuja ENNs-tutkimuksia on toistaiseksi tehty vain Suomessa ja Norjassa (Jestoi ym. 2004, Uhlig ym. 2004). Sen sijaan BEA:n osalta tutkimuksia esiintymisestä ja pitoisuustasoista eri maissa on enemmän, ja niiden perusteella BEA on tavallinen viljan kontaminantti maailmanlaajuisesti (mm. Kosteki ym. 1995, Ritieni ym. 1997, Shephard ym. 1999, Sewram ym. 1999, Jestoi ym. 2004). Havaitut BEA-pitoisuudet ovat vaihdelleet <10 µg/kg ja 520 mg/kg välillä. MON:n esiintymistä ja pitoisuustasoja on tutkittu uusista mykotoksiineista selvästi eniten. Myös se on maailmanlaajuisesti esiintyvä mykotoksiini, jonka havaitut pitoisuustasot eri tutkimuksissa ovat vaihdelleet <20 µg/kg ja 425 mg/kg välillä (mm. Lew ym. 1996, Gutema ym. 2000, Jestoi ym. 2004).

BEA ja ENNs (Kuva 1a.) toksikologiset vaikutukset aiheutuvat todennäköisesti niiden kyvystä toimia ionoforeina (Ovchinnikov ym. 1974, Hilgenfeld & Saenger 1982). Ionoforiset yhdisteet kykenevät sitomaan kationeja ja kuljettamaan niitä solukalvojen lävitse ja siten häiritsemään solujen normaalia ionitasapainoa ja edelleen vaikuttamaan solukalvojen läpäisevyyteen. Ionoforien ominaisuuksiensa lisäksi BEA:n ja ENNs:in on osoitettu inhiboivan rasva-aineenvaihdunnan entsyymejä (Tomoda ym. 1992). Toistaiseksi beauverisiinin ja enniatiinin toksisuutta *in vivo* on tutkittu vain muutamissa tutkimuksissa (mm. Omura ym. 1991, Leitgeb ym. 1999&2000, MCKee ym. 1997). Näiden mukaan yhdisteiden akuutti toksisuus on pieni. Sen sijaan yhdisteillä on osoitettu selviä antimikrobisia, kasvitoksisia, hyönteistoksisia ja solutoksisia ominaisuuksia (mm. Nilanonta ym. 2002, Gupta ym. 1991, Fornelli ym. 2004, Kamyar ym. 2004).

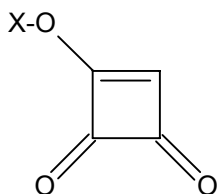
Moniliformiinin (Kuva 1b.) toksikologinen vaikutus perustuu sen kykyyn inhiboida palorypälehapon (puryyvaatin) liittymistä sitruunahapposykliin ja siten estää solujen ATP:n tuottoa (Thiel ym. 1978). Tämä johtaa soluissa energianpuutteeseen ja kudoksen degeneraatioon. MON:n akuutti toksisuus on varsin suuri ollen samaa tasoa myrkyllisimpien trikotekeeni-mykotoksiinien kanssa (Kriek ym. 1977, Burmeister ym. 1979, Ueno ym. 1983). Eläinkokeissa moniliformiinin toksikologiseksi kohdekudokseksi on osoittautunut erityisesti sydänlihas (mm. Morgan ym. 1999).

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää ”uusien” *Fusarium*-mykotoksiinien – beauverisiinin, enniatiinin ja moniliformiinin - esiintymistä ja pitoisuustasoja suomalaisessa viljassa. Mykotoksiinien määrittämiseksi kehitettiin ja validoitiin kemialliset määrittämenetelmät ja uusien *Fusarium*-toksiinien esiintymistä Suomessa tutkittiin vuosina 2001-2003 sekä 2005-2006.

a)



(b)



Kuva 1. Beauverisiin ja enniatiinien (a) ja moniliformiinin (b) kemialliset rakenteet.
X = Na⁺- tai K⁺.

Aineisto ja menetelmät

Vuosina 2001-2003 viljanäytteet (n=79) kerättiin keskeisimmiltä viljantuotantoalueilta Etelä- ja Keski-Suomesta sekä vuosina 2005-2006 laajemmin eri puolelta Suomea (n=264). Mykotoksiinit (MON, BEA ja ENNs) uutettiin jauhetuista viljanäytteistä 84 % asetonitriilillä. Suodatetut näyteuutteet puhdistettiin C₈-kiinteäfaasiuuttopylväillä (BEA, ENNs) tai analysoitiin puhdistamatta konsentroinnin jälkeen (MON). MON ja BEA/ENNs määritettiin nestekromatografi-massaspektrometrisesti (LC-MS/MS) (Jestoi et al. 2003&2005) käyttäen kullekin yhdisteelle spesifisten pilkkoutumistuotteiden detektointia.

Mykotoksiinitulosten tilastollinen käsittely (ANOVA ja Tukeyn testi) suoritettiin Statitix for Windows 7.0 -ohjelmalla (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA). p<0.05 katsottiin tilastollisesti merkitseväksi.

Tulokset ja tulosten tarkastelu

Kehitetyt nestekromatografi-massaspektrometriset (LC-MS/MS) määrittämenetelmät soveltuivat hyvin mykotoksiinien määrittämiseen viljasta. Massaspektrometristen ilmaisintekniikoiden spesifisyys mahdollistaa joissakin tapauksissa näytteen esikäsittelyn minimoimisen, mikä vähentää tutkittavien analyttien hävikkiä ennen varsinaista analyysiä sekä yksinkertaistaa ja lyhentää analyysin kokonaisaikaa. Tässä työssä viljauutteet joko puhdistettiin yksinkertaisella kiinteäfaasi (SPE)-uutolla (BEA ja ENNs) tai analysoitiin puhdistamattomana (MON). MS-menetelmien etuna on lisäksi se, että niiden avulla on mahdollista määrittää erittäin pieniä pitoisuuksia luotettavasti ja samanaikaisesti saada rakenteellista informaatiota tutkittavista yhdisteistä. Validointi osoitti, että kehitetyt menetelmät soveltuvat erinomaisesti pienten mykotoksiinipitoisuuksien määrittämiseen luotettavasti.

Tutkimuksen mukaan ”uudet” *Fusarium*-mykotoksiinit ovat erittäin tavallisia kontaminantteja suomalaisessa viljassa. Yhdisteiden esiintyminen vaihteli vuodesta ja yhdisteestä riippuen: uusia mykotoksiineja havaittiin eri vuosina 1-100 %:ssa analysoituja näytteitä (Taulukko 1.). Yleisin esiintyvyys oli enniatiineilla, joita todettiin kaikissa analysoiduissa näytteissä. Myös BEA:n esiintyvyys oli hyvin suuri (90-100 %). MON esiintyminen (1-81 %) sitä vastoin oli huomattavasti vähäisempi BEA:in ja ENNs:hin verrattuna tutkittuina vuosina.

Vaikka uudet mykotoksiinit olivat tavallisia suomalaisessa viljassa, niiden pitoisuudet olivat useimmissa näytteissä pienet (Kuva 2.). Beauverisiin pitoisuus ylitti 100 µg/kg vain kolmessa kau-

ranäytteessä vuonna 2005. Muissa tutkimuksissamme (Uhlig ym. 2006, Jestoi ym. 2007) olemmekin osoittaneet, että *F. avenaceum* ei kykene tuottamaan beauverisiiniä, toisin kuin aikaisemmin luultiin. Sen sijaan suomalaisista *Fusarium*-lajeista ainakin *F. sporotrichioides* ja *F. poae* kykenevät tuottamaan beauverisiiniä (Jestoi ym. 2007).

Taulukko 1. ”Uusien” *Fusarium*-mykotoksiinien esiintyminen (% analysoidut näytteet), pienin ja suurin havaittu pitoisuus sekä positiivisten näytteiden keskiarvopitoisuudet suomalaisessa viljassa vuosina 2001-2003 sekä 2005-2006. (n.d. = ei todettu)

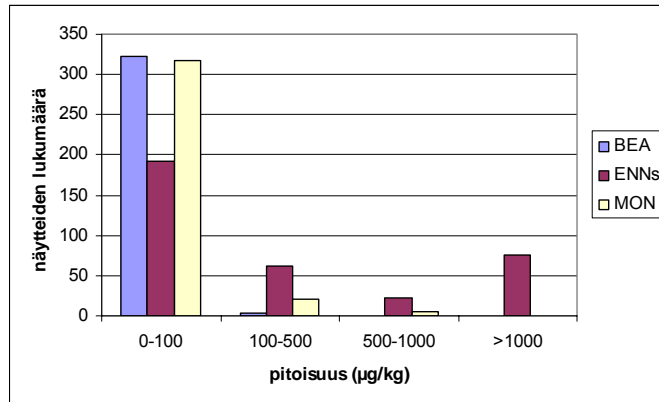
	vuosi	näytteiden lkm	positiiviset näytteet (%)	pienin pitoisuus (µg/kg)	suurin pitoisuus (µg/kg)	positiivisten näytteiden keskiarvo (µg/kg)
BEA	2001	22	91	n.d.	19	10
	2002	16	100	<10	18	11
	2003	41	90	n.d.	<10	10
	2005	151	100	<10	220	41
	2006	99	100	<10	33	22
ENNs	2001	22	100	15	24830	3410
	2002	16	100	38	7340	1350
	2003	41	100	15	2400	310
	2005	151	100	15	14850	1960
	2006	99	100	15	3800	90
MON	2001	22	68	n.d.	810	110
	2002	16	81	n.d.	750	220
	2003	41	17	n.d.	450	100
	2005	151	40	n.d.	850	190
	2006	113	1	n.d.	380	380

Vaikka enniatiini-pitoisuudet useimmissa näytteissä olivat pienet, saattavat pitoisuustasot yksittäisissä tapauksissa olla varsin suuret, jopa mg/kg –tasoa (suurin havaittu pitoisuus 24,8 mg/kg vehnänäytteessä vuonna 2001). Suuria pitoisuuksia esiintyi erityisesti näytteissä, joiden sadonkorjuu oli viivästynyt myöhäiseen syksyyn. Moniliformiinien pitoisuudet suomalaisessa viljassa olivat tutkittuina vuosina varsin pienet. Toistaiseksi suurin määritetty pitoisuus (850 µg/kg vehnänäytteessä vuonna 2005) on selvästi pienempi kuin muissa maissa havaitut pitoisuudet (Norjaa lukuun ottamatta). Ilmeisesti olosuhteet (kasvukauden sademäärä ja lämpötila) Suomessa eivät suosi *F. avenaceumin* tai muiden *Fusarium*-lajien MON-tuotantoa. Toisaalta on myös huomioitava, että tässä tutkimuksessa analysoidut näytteet edustivat tavallisia raakaviljanäytteitä, kun taas useissa muissa tutkimuksissa näytteet on valittu näkyvän *Fusarium*-saastunnan perusteella.

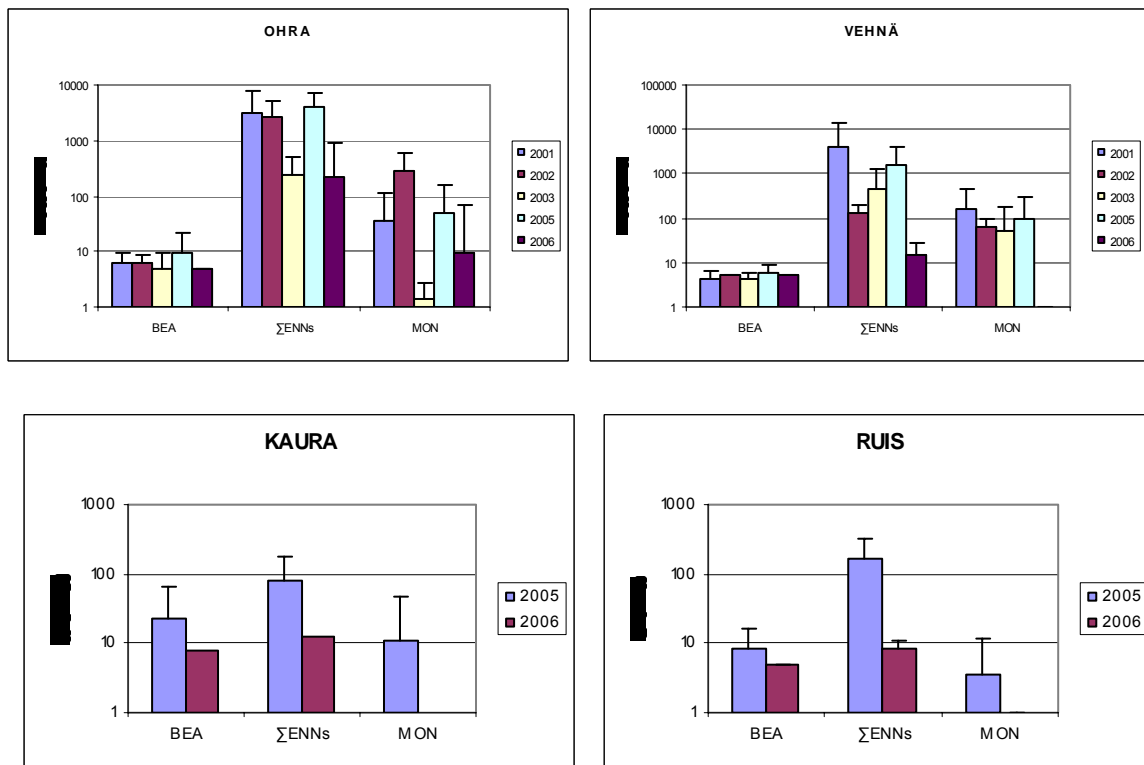
Kasvukaudella oli suuri merkitys uusien mykotoksiinien keskimääräisiin pitoisuuksiin (Taulukko 1., Kuva 3.). Kaikki viljalajit huomioiden positiivisten näytteiden suurin keskimääräinen ENNs-pitoisuus määritettiin vuonna 2001 (3410 µg/kg) ja pienin vuonna 2006 (90 µg/kg). Kasvukausi 2001 oli Suomessa keskimääräistä lämpimämpi ja sateisempi, kun taas vuonna 2006 kasvukausi oli poikkeuksellisen kuiva ja lämmin. Myös muina tutkittuina vuosina kasvuolosuhteissa oli paljon vaihtelua (www.fmi.fi). BEA-pitoisuudet olivat pieniä kaikkina tutkittuina vuosina. MON-pitoisuuksissa havaittiin jonkin verran vaihtelua, vaikka pitoisuustasot olivatkin kaikkina vuosina suhteellisen pienet. Tilastollisten analyysien mukaan ohran ENNs-pitoisuudet vuosina 2001 ja 2005 erosivat tilastollisesti merkittävästi vuosien 2003 ja 2006 ENNs-pitoisuuksista. Vehnän ENNs-pitoisuuksien osalta tilastollisesti merkitsevästi toisistaan erosivat vuodet 2001 ja 2006. Tilastollisten analyysien osalta on huomioitava se, että eri vuosina kerätty aineisto oli vielä varsin suppea ja havaintopisteiden lukumäärissä eri vuosina oli suuria eroja. Nykyinen aineisto ei vielä mahdollista eri viljalajien välisten erojen tutkimista luotettavasti. Suurin osa tässä tutkimuksessa havaitusta variaatiosta lieneekin selitettävissä kasvukausien aikaisten olosuhteiden vaihtelulla.

Vaikka Suomessa esiintyy useita *Fusarium*-lajeja, jotka kykenevät tuottamaan ”uusien” mykotoksiineja *in vitro* (Jestoi ym. 2007), ilmeisesti kuitenkin pelto-olosuhteissa varsinkin BEA:n,

mutta myös MON:n muodostuminen ei syystä tai toisesta käynnisty niin, että näiden yhdisteiden pitoisuudet viljassa olisivat suuret. Enniatiineja sen sijaan näyttää esiintyvän tietyissä olosuhteissa varsin runsaasti. Mykotoksiinien muodostuminen onkin hyvin monimutkainen prosessi, jota ei toistaiseksi ole täysin selvitetty. Homeella voi olla kaikki tarvittavat geenit ja metaboliareitit tiettyjen mykotoksiinien tuottamiseksi, mutta tästä huolimatta tuottajageenit eivät kuitenkaan luonnossa ekspressoidu.



Kuva 2. ”Uusien” *Fusarium*-mykotoksiinien (beauverisiini, enniatiinit ja moniliformiini) esiintyminen suomalaisessa viljassa pitoisuusalueen mukaisesti jaoteltuna vuosina 2001-2003 ja 2005-2006.



Kuva 3. ”Uusien” *Fusarium*-mykotoksiinien keskimääräiset pitoisuudet ohra-, vehnä-, kaura- ja ruisnäytteissä vuosina 2001-2003 ja/tai 2005-2006. (Ei todettu = 0, <LOQ = LOQ)

Johtopäätökset

”Uudet” punahometoksiinit enniatiinit, beauverisiini ja moniliformiini olivat erittäin yleisiä suomalaisessa viljassa vuosina 2001–2003 ja 2005-2006, vaikka niiden pitoisuudet pääsääntöisesti olivatkin pieniä. Enniatiinien pitoisuustasot olivat kuitenkin ajoittain suuria - varsinkin näytteissä, joiden sadonkorjuu oli viivästynyt myöhäiseen syysyyn. Kasvukauden aikaisilla ympäristöolosuhteilla, lähinnä kosteudella ja lämpötilalla, onkin erittäin suuri vaikutus viljan muodostuvien homemyrkköjen laatuun ja

määrään. Tästä syystä mykotoksiinien kattavat seurantatutkimukset ovat tarpeellisia paitsi perinteisten, myös uusien mykotoksiinien osalta.

Nykyisen toksikologisen tietämyksen perustella voidaan olettaa, että tutkimuksessa määritetyistä mykotoksiineista beauverisiini ja moniliformiini eivät ainakaan yksinään aiheuta akuuttia uhkaa ihmisten ja eläinten terveydelle Suomessa, sillä niiden pitoisuudet olivat varsin pienet kaikkina tutkittuina vuosina. Sen sijaan enniatiinien toksisuuden osalta vaaditaan lisätutkimuksia, jotta voidaan paremmin arvioida niiden aiheuttamia vaikutuksia mm. eläinten ravitsemukseen ja hyvinvointiin. Myös mykotoksiinien yhteisvaikutusten selvittäminen on tärkeää, koska useimmiten vilja- tai rehunäytteissä on samanaikaisesti havaittavissa useampia mykotoksiineja. Eviran koordinoimana onkin käynnistymässä Suomen Akatemian rahoittama tutkimushanke (Application of modern molecular techniques to investigate the mode of action of highly prevalent *Fusarium avenaceum* –mycotoxins) vuosina 2008-2011, jossa tarkoituksena on selvittää enniatiinien ja moniliformiinin toksikologista merkitystä yksinään sekä yhdessä erittäin tavallisen suomalaisessa viljassa esiintyvän trikotekeeni-mycotoksiinin, deoksinivalenolin, kanssa.

Kirjallisuus

- Bottalico, A. & Perrone, G.** 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with small-grain cereals in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 611-624.
- Burmeister, H.R., Ciegler, A. & Vesonder, R.F.** 1979. Moniliformin, a metabolite of *Fusarium moniliforme* NRRL 6322: purification and toxicity. *Appl. Environ. Microb.* 37(1): 11-13.
- Eskola, M., Parikka, P. & Rizzo, A.** 2001. Trichothecenes, ochratoxin A and zearalenone contamination and *Fusarium* infection in Finnish cereal samples in 1998. *Food Addit. Contam.* 18: 63-71.
- Fornelli, F., Minervini, F. & Logrieco, A.** 2004. Cytotoxicity of fungal metabolites to lepidopteran (*Spodoptera frugiperda*) cell line (SF-9). *J. Inverteb. Pathol.* 85: 74-79.
- Gutema, T., Munimbazi, C. & Bullermann, L.B.** 2000. Occurrence of fumonisins and moniliformin in corn and corn-based products of U.S. origin. *J. Food Prot.* 63(12): 1732-1737.
- Gupta, S., Krasnoff, S.B., Underwood, N.L., Renwick, J.A.A. & Roberts, D.W.** 1991. Isolation of beauvericin as an insect toxin from *Fusarium semitectum* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. *Mycopath.* 115: 185-189.
- Hilgenfeld, R. & Saenger, W.** 1982. Structural chemistry of natural and synthetic ionophores and their complexes with cations. Kirjassa: Topics in Current Chemistry 101. pp. 1-82. Boschke, F.L., Ed., Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Jestoi, M., Rokka, M., Rizzo, A., Peltonen, K., Parikka, P. & Yli-Mattila, T.** 2003. Moniliformin in Finnish grains: Analysis with LC-MS/MS. *Asp. Appl. Biol.* 68: 211-216.
- Jestoi, M., Rokka, M., Yli-Mattila, T., Parikka, P., Rizzo, A., & Peltonen, K.** 2004. Presence and concentration of the *Fusarium*-related mycotoxins beauvericin, enniatins and moniliformin in Finnish grain samples. *Food Addit. Contam.* 21: 794-802.
- Jestoi, M., Aurasari, S., Rokka, M., Rizzo, A. & Peltonen, K.** 2005. Determination of *Fusarium*-mycotoxins beauvericin and enniatins with liquid-chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *J. Liq. Chrom. Rel. Tech.* 28: 369-381.
- Jestoi, M., Paavanen-Huhtala, S., Parikka, P. & Yli-Mattila, T.** 2007. *In vitro* and *in vivo* mycotoxin production of *Fusarium* species isolated from Finnish grains. *Arch. Phytopathol. Plant Pathol.* (in press).
- Kamrar, M., Rawnduzi, P., Studenik, C.R., Kouri, K. & Lemmens-Gruber, R.** 2004. Investigation of the electrophysiological properties of enniatins. *Arch. Biochem. Biophys.* 429: 215-223.
- Kosiak, B., Torp, M., Skjerve, E. & Thrane, U.** 2003. The prevalence and distribution of *Fusarium* species in Norwegian cereals: a survey. *Acta Agric. Scand., Sec. B: Soil and Plant Sci.* 53(4): 168-176.
- Kostecki, M., Szczesna, J., Chelkowski, J. & Wisniewska, H.** 1995. Beauvericin and moniliformin production by Polish isolates of *Fusarium subglutinans* and natural co-occurrence of both mycotoxins in maize samples. *Microbiol. Alim. Nutr.* 13: 67-70.
- Kriek, N.P.J., Marasas, W.F.O., Steyn, P.S., Van Rensburg, S.J. & Steyn, M.** 1977. Toxicity of a moniliformin-producing strain of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* isolated from maize. *Food Cosm. Tox.* 15: 579-587.
- Langseth, W., Kosiak, B., Claesen, P.-E., Torp, M. & Gareis, M.** 1997. Toxicity and occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in late harvested and overwintered grain from Norway 1993. *J. Mycopathol.* 145: 409-416.

- Leitgeb, R., Lew, H., Wetscherek, W., Böhm, J. & Quinz, A.** 1999. Influence of fusariotoxins on growing and slaughtering performance of broilers. *Die Bodenkultur*. 50(1): 57-66.
- Leitgeb, R., Lew, H., Khidr, R., Böhm, J., Zollitsch, W. & Wagner, E.** 2000. Influence of *Fusarium* toxins on growth and carcass characteristics of turkeys. *Die Bodenkultur*. 51(3): 171-178.
- Lew, H., Chelkowski, J., Pronczuk, P. & Edinger, W.** 1996. Occurrence of the mycotoxin moniliformin in maize (*Zea mays* L.) ears infected by *Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) Nelson *et al.* *Food Addit. Contam.* 13(3): 321-324.
- Logrieco, A., Rizzo, A., Ferracane, R. & Ritieni, A.** 2002. Occurrence of beauvericin and enniatins in wheat affected by *Fusarium avenaceum* head blight. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(1): 82-85.
- McKee, T.C., Bokesch, H.R., McCormick, J.L., Rashid, M.A., Spielvogel, D., Gustafson, K.R., Alavanja, M.M., Cardellina, J.H. & Boyd, M.R.** 1997. Isolation and characterization of new anti-HIV and cytotoxic leads from plants, marine and microbial origins. *J. Nat. Prod.* 60(5): 431-438.
- Morgan, M.K., Fitzgerald, S.D., Rottinghaus, G.E., Bursian, S.J. & Aulerich, R.J.** 1999. Toxic effects to mink of moniliformin supplied from *Fusarium fujikuroi* culture material. *Vet. Hum. Tox.* 41(1): 1-5.
- Nilanonta, C., Isaka, M., Kittakoop, P., Trakulnaleamsai, S., Tanticharoen, M. & Thebtaranonth, Y.** 2002. Precursor-directed biosynthesis of beauvericin analogs by the insect pathogenic fungus *Pae-cilomyces tenuipes* BCC 1614. *Tetrahedron* 58: 3355-3360.
- Omura, S., Koda, H. & Nishida, H.** 1991. Hypolipemics containing beauvericin as acylcoenzyme A cholesterol acyltransferase inhibitor. Patent JP 89-16115019890623 (kirjoitettu japaniksi).
- Ovchinnikov, Y.A., Ivanov, V.T., Evstratov, A.E., Mikhaleva, I.I., Bystrov, V.F., Portnova, S.L., Balashova, T.A., Meshcheryakova, E.N. & Tulchinsky, V.M.** 1974. The enniatin ionophores, conformation and ion binding properties. *Int. J. Peptide and Prot. Res.* 6: 465-498.
- Ritieni, A., Moretti, A., Logrieco, A., Bottalico, A., Randazzo, G., Monti, S.M., Ferracane, R. & Fogliano, V.** 1997. Occurrence of fusaproliferin, fumonisin B₁ and beauvericin in maize from Italy. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4011-4016.
- Sewram, V., Nieuwoudt, T.W., Marasas, W.F.O., Shephard, G.S. & Ritieni, A.** 1999. Determination of the *Fusarium* mycotoxins fusaproliferin and beauvericin by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Chrom. A.* 858: 175-185.
- Shephard, G.S., Sewram, V., Nieuwoudt, T.W., Marasas, W.F.O. & Ritieni, A.** 1999. Production of the mycotoxins fusaproliferin and beauvericin by South African isolates in the *Fusarium* section Liseola. *J. Agric. Food Chem.* 47: 5111-5115.
- Thiel, P.G.** 1978. A molecular mechanism for the toxic action of moniliformin, a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme*. *Biochem. Pharmacol.* 27: 483-486.
- Tomoda, H., Huang, X.-H., Cao, J., Nishida, H., Nagao, R., Okuda, S., Tanaka, H., Omura, S., Arai, H. & Inoue, K.** 1992. Inhibition of acyl-CoA: cholesterol acyltransferase activity by cyclodepsipeptide antibiotics. *J. Antib.* 45(10): 1626-1632.
- Ueno, Y.** 1983. General toxicology. *Develop. Food Sci.* 4:135-146.
- Uhlig, S. & Ivanova, L.** 2004. Determination of beauvericin and four other enniatins in grain by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chrom. A.* 1050: 173-178.
- Uhlig, S., Jestoi, M., Knutsen, A.K. & Heier, B.T.** 2006. Multiple regression analysis as a tool for the identification of relations between semi-quantitative LC-MS data and cytotoxicity of extracts of the fungus *Fusarium avenaceum* (syn. *F. arthrosporioides*). *Toxicon* 48: 567-579.
- Yli-Mattila, T., Paavanen-Huhtala, S., Parikka, P., Konstantinova, P. & Gagkaeva, T.Y.** 2004. Molecular and morphological diversity of *Fusarium* species in Finland and north-western Russia. *Eur. J. Plant Pathol.* 110: 573-585.
- www.fmi.fi (Suomen ilmatieteen laitos)