

Viljan *Fusarium*-tartunta ja -toksiinit 2005-2006

Sari Rämö¹⁾, Veli Hietaniemi¹⁾ ja Päivi Parikka²⁾

1)MTT laboratoriot, 31600 Jokioinen, sari.ramo@mtt.fi, veli.hietaniemi@mtt.fi

2)MTT Kasvintuotannon tutkimus, Peltokasvitutkimus, 31600 Jokioinen, paivi.parikka@mtt.fi

Tiivistelmä

Tavoitteena oli selvittää vuosina 2005-2006 suomalaista viljaa tartuttava *Fusarium*-lajisto sekä sen muodostamat mykotoksiinit. Edellinen kattavampi *Fusarium*-tutkimus suomalaisesta viljasta on peräisin 1970-luvun lopulta ja viljelyssä on tapahtunut sen jälkeen voimakkaita muutoksia, myös olosuhteet vaikuttavat muuttuneen jonkin verran. Kuivattuja, lajittelemattomia viljanäytteitä hankittiin joka puolelta maata 2005 224 ja 2006 164, joista kaikista tehtiin *Fusarium*-määritykset maljakasvatuksin. Trikotekeeni- ja tsearalenonimäärityksiä ei tehty kaikista näytteistä.

Tutkimusvuodet olivat hyvin erilaisia sääoloiltaan ja olosuhteet suosivat eri *Fusarium*-lajeja. *Fusarium*-tartunta oli 2005 vuoden näytteissä homeiden kasvulle suotuisien olojen takia runsas. Deoksinivalenolin (DON) muodostajat *Fusarium culmorum* ja *F. graminearum* olivat yleisempiä ohralla ja kauralla, kevätvehnällä tartuntaa oli vähemmän. Syysviljanäytteitä tutkittiin vähän ja niissä myös *Fusarium*-tartunta oli alhaisin. T2/HT-2 muodostajia *F. sporotrichioides* ja *F. langsethiae* tavattiin runsaimmin kauranäytteistä, mutta myös jonkin verran ohralta. Alueellisesti lajit näyttivät olevan runsaimpia Itä-Suomesta kerätyissä näytteissä. Vuoden 2006 kuivan kesän sadossa DON-muodostajia oli niukemmin, sensijaan T2/HT-2 muodostajia ja *F. poae*-lajia oli runsaammin kuin 2005. Viimemainittuja, erityisesti *F. langsethiae*-lajia esiintyi varsin runsaana eräillä kauralajikkeilla. Lajia voidaan tavata kaikilta viljoilta ja kaikilta viljanviljelyalueilta, mutta tartunta on yleisin ja runsain kauralla. *F. langsethiae* on todettu pääasialliseksi trikotekeenitoksiinien tuottajaksi Norjassa ja laji näyttää myös olevan tärkein T2/HT-2 toksiinien tuottaja suomalaisessa viljassa, ohralla esiintyy myös samoja toksiineja tuottavaa *F. sporotrichioides*-lajia. Deoksinivalenolin tuottajista *F. culmorum* on yleisempi ja runsaampi kuin *F. graminearum*. Nivalenolia (NIV) muodostava *F. poae* viihtyy lämpimässä ja kuivassa, lajia esiintyy eniten kauralla.

EU on asettanut raja-arvoja DON:lle ja tsearalenonille prosessoimattomassa viljassa. Suurin sallittu DON-pitoisuus prosessoimattomassa kaurassa on 1750 µg/kg ja muissa viljoissa 1250 µg/kg. Suurin sallittu tsearalenonipitoisuus prosessoimattomassa viljassa on 100 µg/kg. Vuoden 2006 näytteistä ei mitattu raja-arvon ylittäviä pitoisuuksia. Vuonna 2005 sekä ohrasta että syysvehnästä mitattiin muutamia yli 1250 µg/kg ja kauralla yli 1750 µg/kg olevia DON-pitoisuuksia. Lisäksi yhden rehuohranäytteen tsearalenonipitoisuus oli yli 100 µg/kg. NIV-pitoisuudet jäivät pääsääntöisesti alle 200 µg/kg tai sitä ei havaittu lainkaan. Molempina vuosina sekä ohrasta että kaurasta mitattiin yli 200 µg/kg ja kauralla muutamia yli 500 µg/kg olevia T-2/HT-2-pitoisuuksia. Positiivista oli se, että näitä toksiineja ei havaittu lainkaan tai niiden yhteenlaskettu pitoisuus jäi alle 200 µg/kg n.75 % analysoiduista näytteistä.

Asiasanat: *Fusarium*, mykotoksiinit, trikotekeeni, tsearalenoni, vilja

Johdanto

MTT on vuodesta 1999 tehnyt yhdessä Eviran ja ProAgrian kanssa viljojen jatkuvaa laadunseurantaa, jossa MTT:n työnä on ollut viljojen hometoksiiniseuranta. MTT laboratoriot on vuosittain tehnyt trikotekeeni-, tsearalenoni- ja okratoksiini A-analyysit kotimaisesta viljasta viljalajeittain. Tulokset on kytketty myös viljelyn taustatietoihin (www.agronet.fi/cerveg). Taustatiedoilla tarkoitetaan tässä maalajia, happamuutta, muokkausta, lannoitusta, kasvinsuojelutuoimia, esikasvitietoja, kylvö- ja puintipäiviä, korjuukosteutta, satoarviota jne. Tutkimus synnytti tarpeen selvittää myös suomalaisen viljan *Fusarium*-lajiston. ”Selvitys *Fusarium*-lajeista ja niiden tuottamista mykotoksiineista suomalaisessa viljassa”-hanke (FinMyco-hanke) toteutettiin yhteistyönä MTT:n, Eviran ja Turun yliopiston biologian laitoksen kanssa vuosina 2005-2007. Edellinen kattavampi *Fusarium*-tutkimus suomalaisesta viljasta on peräisin 1970-luvun lopulta ja viljelyssä on tapahtunut sen jälkeen voimakkaita muutoksia, myös olosuhteet vaikuttavat muuttuneen jonkin verran.

Aineisto ja menetelmät

Näytteet

Näytehankinta toteutettiin ostopalveluna ProAgrian kautta. Tästä oli saatu hyviä kokemuksia viljojen jatkuvassa laadunseurannassa. Näytteet oli tarkoitus kerätä ProAgrian lohkotietopankkitiloilta, jolloin viljelyn taustatiedot olisi helposti saatavilla. ProAgrian vuosittainen näyteenottosuunnitelma oli 150 näytettä eri puolilta Suomea siten, että kaikki viljalajit olisi edustettuina. Tavoitetta ei saavutettu: Näytemäärä jäi molempina vuosina alle 100 näytteen. Vuonna 2005 Uudeltamaalta ja Varsinais-Suomesta ei saatu ostopalvelunäytteitä lainkaan. Lisäksi 2005 näytteiden mukana toimitettiin vain suppeat viljelyn taustatiedot, joissa oli kerrottu lähinnä kylvö- ja puintipäivä, sekä korjuukosteus ja satoarvio. Vuonna 2006 ostopalvelunäytteissä ei ollut lainkaan edustettuna Etelä- ja Pohjois-Karjala sekä Etelä-Pohjanmaa. Tähän saattoi olla useita syitä: Vuoden 2006 korjuuaika oli aikainen ja näytehankinta käynnistettiin mahdollisesti liian myöhään. ProAgrian näyteenottajien keräysintoa saattoi heikentää myöhäinen tiedottaminen 2005 näytteiden tuloksista. MTT:n tutkimusasemat ja Satakunnan viljelijäengas toimittivat myös näytteitä ja niillä saatiin paikattua ostopalvelun jättämiä aukkoja. Kuivattuja, lajittelemattomia viljanäytteitä saatiin tutkimuksiin 2005 224 ja 2006 164. Satakunnasta kerättiin lisäksi kauran lajittelujätteitä, jotka olivat joko kuivurissa poistuvaa kevyttä roskaa ja/tai pieniä jyviä.

MTT:n analyysit

Kaikista varsinaisista viljanäytteistä tehtiin *Fusarium*-määritykset maljakasvatuksin MTT kasvintuotannon tutkimuksella. 100 jyvää/näyte inkuboitiin PCNB-alustalla. Kasvustot eristettiin perunadekstroosialustalle (PDA). *Fusarium*-lajit tunnistettiin PDA-alustalta silmävaraisesti ja mikroskoopilla.

MTT Laboratoriot analysoi näytteistä hometoksiiniseurannan tavoin trikotekeenit ja tsearalenonin. Varastotoksiini, okratoksiini A jätettiin tutkimuksen ulkopuolelle, koska se ei ole *Fusarium*-lajien tuottama. Trikotekeenit analysoitiin 2005 160 ja 2006 kaikista viljanäytteestä. MTT:n trikotekeenimenetelmällä voidaan analysoida 8 toksiinia: deoksinivalenoli (DON), diasetoksiskirpenoli (DAS), 3- ja 15-asetyyliideoksinivalenolit (3 ja 15-AcDON), fusarenon X (F-X), nivalenolin (NIV), T-2- ja HT-2-toksiinit (Hietaniemi ym. 2004). Toksiinit uutetaan jauhetusta näytteestä asetonitriiliin ja veden seoksella. Uute puhdistetaan Romer #227 MycoSep SPE-kolonnilla. Yhdisteet tunnistetaan trimetyylisilyylijohtannaisinaan (TMSI) sisäisen standardin (ISTD) menetelmällä kaasukromatografi-massaspektrometrisesti (GC-MS) käyttäen kohdeioniseurantaa (SIM). Menetelmä on akkreditoitu. Koska tsearalenonin esiintyminen on ollut vähäistä MTT:n vuosittaisessa hometoksiiniseurannassa, se analysoitiin 2005 vain 30 ja 2006 58 viljanäytteestä. Tsearalenoni uutetaan rukiista, ohrasta ja vehnästä kuten trikotekeenit, mutta uutteen puhdistuksessa käytetään Romer #226 MycoSep SPE-kolonnilla (Romer Labs Methods). Kauran tsearalenonimäärityksessä uuttoliuoksena on asetonitriili-vesi:etikkahapposeos ja uute puhdistetaan Bakerbond (SiOH) -SPE-kolonnilla (J.TBaker) (MTT:n sisäinen menetelmä: 2.18). Kuiviinhaihdutettu näyte liuotetaan veden ja asetonitriiliin seokseen ja mitataan nestekromatografisesti (HPLC) fluoresenssidetektorilla. Tarvittaessa tulos voidaan varmistaa LC-MS-tekniikalla.

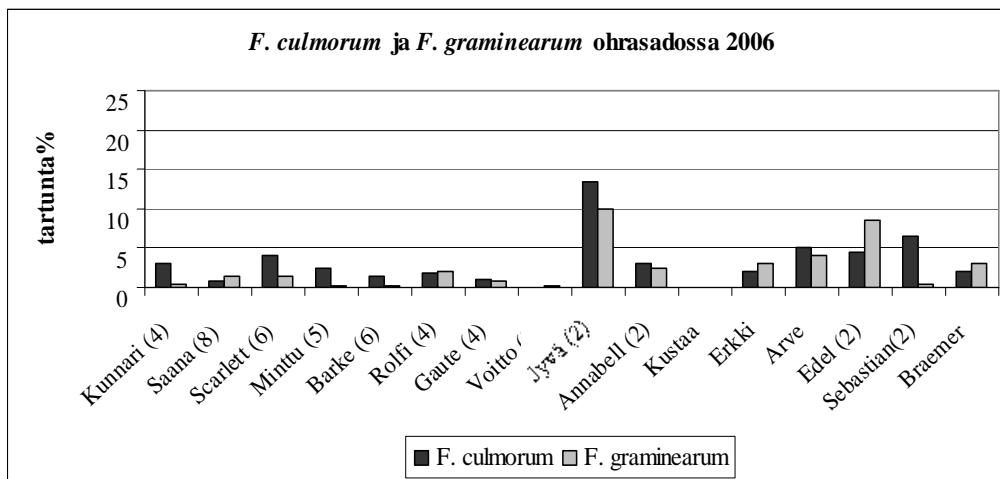
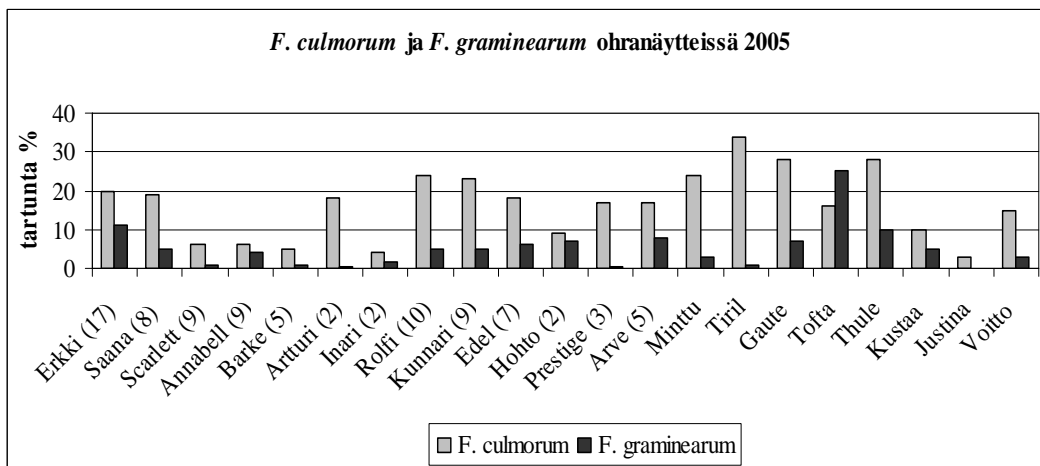
Tulokset ja tulosten tarkastelu

Fusarium-tulokset

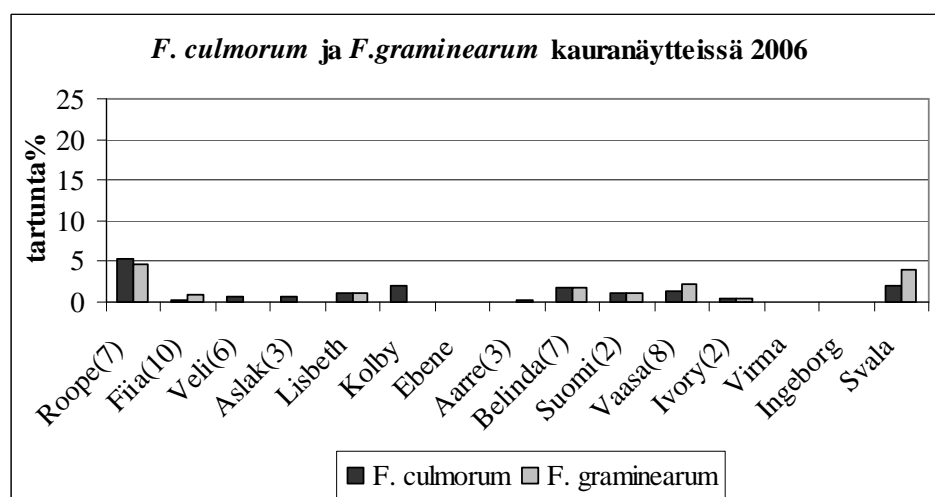
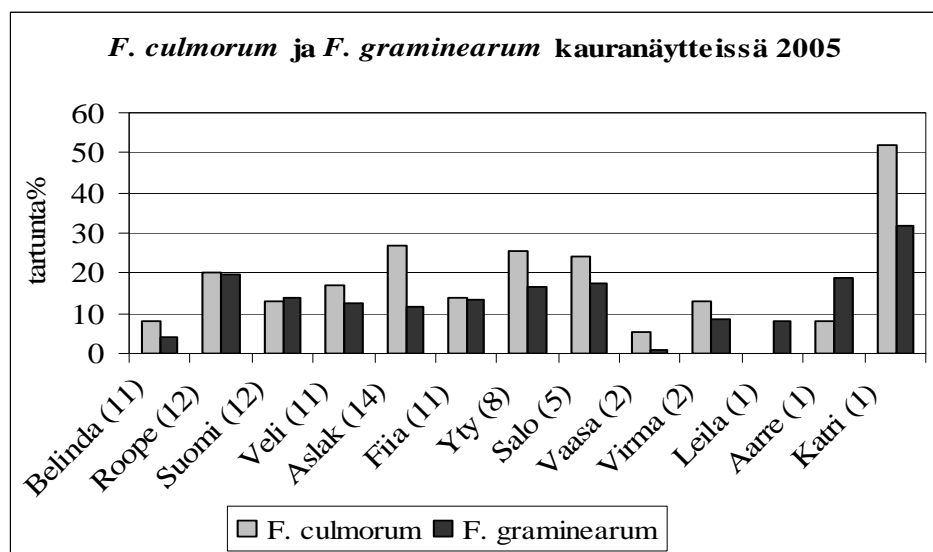
Tutkimusvuodet olivat hyvin erilaisia sääoloiltaan ja olosuhteet suosivat eri *Fusarium*-lajeja. *Fusarium*- tartunta oli 2005 kerätyissä näytteissä homeiden kasvulle suotuisien olojen takia runsas. *Fusarium avenaceum* (F.av) oli yleisin sekä ohralla, kevätvehnällä että kauralla. Deoksinivalenolin (DON) muodostajat *Fusarium culmorum* ja *F. graminearum* olivat yleisempiä ohralla ja kauralla (kuvat 1 ja 2.), kevätvehnällä tartuntaa oli vähemmän. Syysviljanäytteitä tutkittiin vähän ja niissä myös *Fusarium*-tartunta oli alhaisin. T2/HT-2 muodostajia *F. sporotrichioides* ja *F. langsethiae* tavattiin runsaimmin kauranäytteistä (kuva 3.), mutta myös jonkin verran ohralta (Thrane ym., 2004). Alueellisesti lajit näyttivät olevan runsaimpia Itä-Suomesta kerätyissä näytteissä.

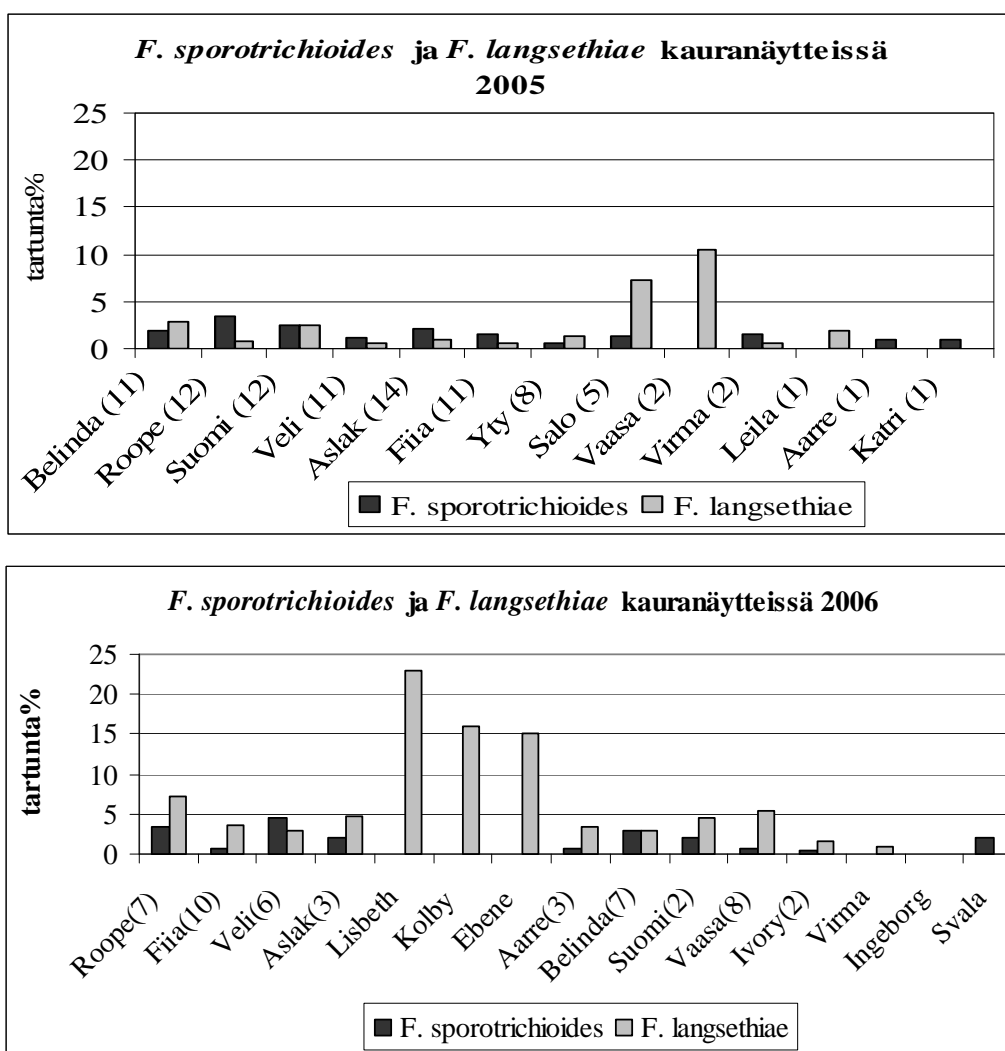
Vuoden 2006 kuivan kesän sadossa DON-muodostajia oli niukemmin, sensijaan T2/HT-2 muodostajia ja *F. poae*-lajeja oli runsaammin kuin 2005. Viimemainittuja, erityisesti *F. langsethiae*-lajeja esiintyi varsin runsaana erällä kauralajikkeilla (kuva 3.). Juuri *F. langsethiae* on meillä varsin uusi laji, jonka esiintymisestä eri viljalajeilla ja eri osissa maatamme ei ole aikaisempaa tietoa. Lajia voidaan tavata kaikilta viljoilta ja kaikilta viljanviljelyalueilta, mutta tartunta on yleisin ja runsain kauralla. *F. langsethiae* on todettu pääasialliseksi trikotekeenien tuottajaksi Norjassa (Kosiak ym., 2003), ja laji näyttää myös olevan tärkein T2/HT-2 toksiinien tuottaja suomalaisessa viljassa, vaikka erityisesti ohralla esiintyy myös samoja toksiineja tuottavaa *F. sporotrichioides*-lajia. Deoksinivalenolin tuottajista *F. culmorum* on yleisempi ja runsaampi kuin *F. graminearum*. Nivalenolia (NIV) muodostava *F. poae* viihtyy lämpimässä ja kuivassa, lajia esiintyy eniten kauralla

Kuva 1. *Fusarium culmorum* ja *F. graminearum* eri ohralajikkeissa 2005 ja 2006



Kuva 2. *Fusarium culmorum* ja *F.graminearum* eri kauralajikkeissa 2005 ja 2006



Kuva 3. *Fusarium sporotrichioides* ja *F. langsethiae* eri kauralajikkeissa 2005 ja 2006

Fusarium-toksiinitulokset

EU on asettanut raja-arvoja DON:lle ja tsearalenonille prosessoimattomassa viljassa (Komission asetus (EY) N:o 1881/2006). Suurin sallittu DON-pitoisuus prosessoimattomassa kaurassa ja durum vehnässä on 1750 µg/kg ja muissa viljoissa 1250 µg/kg. Suurin sallittu tsearalenonipitoisuus prosessoimattomassa viljassa on 100 µg/kg.

Näytteistä ei havaittu lainkaan seuraavia toksineja: DAS, F-X ja 15-AcDON. 3-AcDON:a esiintyi vuonna 2005. Se liittyy selkeästi kohonneisiin DON-pitoisuuksiin. Vuonna 2005 sekä ohrasta että kevätvehnässä mitattiin muutamia yli 1250 µg/kg ja kauralla yli 1750 µg/kg olevia DON-pitoisuuksia (taulukko 1). Korkein DON-pitoisuus oli kaurasta mitattu 9300 µg/kg. 2006 ei mitattu raja-arvon ylittäviä DON-pitoisuuksia. Syysvehnässä ja rukiissa DON:n esiintyminen oli vain vähäistä sekä 2005 että 2006. T-2/HT-2 toksineille ei ole toistaiseksi voimassa EU raja-arvoja, vaikka ne ovat DON:a toksisempia. Huolestuttavaa oli se että molempina vuosina sekä ohrasta että kaurasta mitattiin yli 200 µg/kg ja kauralla muutamia yli 500 µg/kg olevia pitoisuuksia (taulukko 2). Vuonna 2005 korkein T-2/HT-2 pitoisuus oli kaurasta mitattu 1900 µg/kg ja vuonna 2006 myös kaurasta mitattu 1700 µg/kg. Positiivista oli se, että näitä toksineja ei havaittu lainkaan tai niiden yhteenlaskettu pitoisuus jäi alle 200 µg/kg n. 75 % analysoiduista näytteistä. Syysviljoista näitä ei havaittu lainkaan.

Taulukko 1. Vuoden 2005 ja 2006 näytteistä määritetyt DON-pitoisuudet ja niiden jakautuminen viljalajeittain ja pitoisuusluokittain

Vilja-laji	Deoksinivalenoli (DON): kpl näytteitä (vaihteluväli: µg/kg)								Yhteensä	
	< 200 µg/kg		200-1250 µg/kg		1250-1750 µg/kg		> 1750 µg/kg			
	2005	2006	2005	2006	2005	2006	2005	2006	2005	2006
Ruis	6 (n.d.-41)	8 (n.d.- < 25)	0	0	0	0	0	0	6 (n.d.-41)	8 (n.d.- < 25)
Ohra	21 (n.d.-170)	58 (n.d.- 90)	25 (210-1100)	3 (210-990)	4 (1250-1590)	0	1 (4750)	0	51 (n.d.-4750)	61 (n.d.-990)
Kevät- vehnä	11 (n.d.-140)	32 (n.d.-49)	6 (220-1230)	0	3 (1450-1710)	0	2 (2000-2220)	0	22 (n.d.-2220)	32 (n.d.-49)
Syys- vehnä	5 (n.d.-150)	4 (n.d.)	0	0	0	0	0	0	5 (n.d.-150)	4 (n.d.)
Kaura	10 (n.d.-150)	36 (n.d.-19)	48 (200-1230)	22 (200-820)	3 (1450-1650)	0	12 (1760-9300)	0	72 (n.d.-9300)	58 (n.d.-820)
Muut	0	0	1* (1040)	1 (220)	0	0	2 (2570-3840)	0	3 (1040-3840)	1 (220)
yht.	53 (n.d.-170)	138 (n.d.- 90)	80 (200-1230)	26 (200-990)	10 (1250-1710)	0	17 (1760-9300)	0	160 (n.d.-9300)	164 (n.d.-990)

n.d. = yhdistettä ei havaittu

* = murskattu säilötty kaura

Muut = kauranäyte, jossa mukana muita siemeniä

Taulukko 2. Vuoden 2005 ja 2006 näytteistä määritetyt T-2/HT-2 -pitoisuudet ja niiden jakautuminen viljalajeittain ja pitoisuusluokittain

Vilja-laji	T-2 + HT-2 –toksiinit: kpl näytteitä (vaihteluväli: µg/kg)								Yhteensä	
	n.d.		< 200 µg/kg		200-500 µg/kg		> 500 µg/kg			
Vuosi	2005	2006	2005	2006	2005	2006	2005	2006	2005	2006
Ruis	6	8	0	0	0	0	0	0	6 (n.d.)	8 (n.d.)
Ohra	31	38	18 (< 25-120)	20 (< 25-130)	2 (250-280)	2 (210)	0	1 (760)	51 (n.d.-280)	61 (n.d.-760)
Kevät- vehnä	22	31	0	1 (26)	0	0	0	0	22 (n.d.)	32 (n.d.-26)
Syys- vehnä	5	4	0	0	0	0	0	0	5 (n.d.)	4 (n.d.)
Kaura	28	23	25 (< 25-150)	24 (< 25-200)	12 (250-480)	6 (210-470)	8 (540-1940)	5 (510-1700)	73 (n.d.-1940)	58 (n.d.-1700)
Muut	3	0	0	1 (31)	0	0	0	0	3 (n.d.)	1 (31)
yhteensä	95	104	43 (< 25-150)	46 (< 25-200)	14 (250-480)	8 (210-470)	8 (540-1940)	6 (510-1700)	160 (n.d.-1940)	164 (n.d.-1700)

NIV-pitoisuudet jäivät molempina vuosina pääsääntöisesti alle 200 µg/kg tai sitä ei havaittu lainkaan. Korkein oli NIV-pitoisuus oli kaurasta mitattu 1320 µg/kg, myös ohraassa oli yksittäisiä korkeita pitoisuuksia vuonna 2005. Vuonna 2005 tsearalenonia havaittiin kuudesta näytteestä, joista yhden rehuohranäytteen tsearalenonipitoisuus oli 230 µg/kg. Vuonna 2006 vain yhdestä näytteestä havaittiin tsearalenonia.

Varsinaisten viljanäytteiden lisäksi trikotekeenit määritettiin muutamista kauran lajittelujätenäytteistä. Vuonna 2005 näistä mitattiin huomattavan korkeita toksini-pitoisuuksia. Vuonna 2006 pitoisuudet olivat vuoden 2005 tuloksia alhaisemmat. Niissä jätefraktiossa, jotka muodostuivat kuivurissa poistuvasta kevyestä roskasta, DON, NIV, T-2 ja HT-2 -pitoisuudet saattoivat olla kymmenkertaiset niihin jäte-fraktioihin verrattuna, jotka muodostuivat pääasiassa pienistä jyvästä.

Johtopäätökset

Fusarium-tartunta oli 2005 sadossa selvästi runsaampi kuin 2006 johtuen erilaisista sääoloista. Kesän 2005 kosteus suosi erityisesti *F. avenaceum*-, *F. culmorum* ja *F. framinearum*-lajeja. Toisaalta kuivana kesänä 2006 korostui *F. langsethiae*-lajin määrä muiden sienten tartunnan ollessa vähäisempää. *F. langsethiae*-lajia tavattiin eniten kauralta, mutta myös ohralta. Kevätvehnällä lajia oli vähiten, samoin se oli harvinainen syysviljoilla. Lajia löytyi paitsi etelän viljelyalueilta, myös pohjoisesta. Kaikkiaan kauralla ja ohralla Fusarium-tartunta oli runsainta. Lajikkeiden välillä oli eroja tartunnassa. Lajien runsaudessa taas saattoi havaita jonkinlaista eroa eri viljelyalueiden välillä, mikä oli seurausta erilaisista sääoloista ja osin eri lajikkeista.

FinMyco-näytteistä tehdyt trikotekeenimääritykset kasvattivat MTT:n vuosittaisen hometoksiinitulosaineiston yli kaksinkertaiseksi. Vuonna 2006 FinMycon DON-tulokset olivat samaa tasoa kuin hometoksiiniseurannassa: Kevätvehnällä DON-tulokset jäivät alle 200 µg/kg. FinMycon kauran ja ohran DON-pitoisuudet jäivät alle raja-arvojen, tosin hometoksiiniseurannan ohrissa esiintyi yksi raja-arvon ylittävä pitoisuus (1700 µg/kg). Vuonna 2005, jolloin *Fusarium*-lajejakin esiintyi runsaammin, näytemäärän kasvattaminen 120 näytteestä 280 näytteeseen toi esiin useampia DON-raja-arvon ylityksiä kuin mitä vuosittaisessa hometoksiiniseurannassa oli esiintynyt. Olisi tärkeä saada selville 2005 vuodelta laajemmat viljelyn taustatiedot, jotta saataisiin lisätietoa siihen, miksi epävakaisenakin vuosina, joillakin alueilla/lohkoilla voidaan kasvattaa lähes hometoksiineista vapaata viljaa.

Lajittelulla voidaan selvästi vähentää viljaerän hometoksiinipitoisuuksia ja siten parantaa sen laatua elintarvike-, siemen- tai rehuviljaksi. Lajittelujätteen käyttäminen eläinten rehuksi ei ole kovin suositeltavaa tämän tutkimushankkeen tulosten perusteella.

Kirjallisuus

Hietaniemi V, Kontturi M, Rämö S, Eurola M, Kangas A, Niskanen M and Saastamoinen M (2004) Contents of trichothecenes in oats during official variety, organic cultivation and nitrogen fertilization trials in Finland. *Agricultural and Food Science* 13: 54-67

Romer Labs Methods: Zearalenone HPLC MycoSep™ 226 Method

MTT:n sisäinen menetelmä 2.18, Okratoksiini A:n ja tsearalenonin määrittäminen kaurasta nestekromatografisesti

Thrane U; Adler A; Clasen P-E; Galvano F; Langseth W; Lew H; Logrieco A; Nielsen K F; Ritieni A (2004) Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides*. *International Journal of Food Microbiology* 95:257-266

Kosiak B; Torp M ; Skjerve E; Thrane U (2003) The prevalence and distribution of *Fusarium* species in Norwegian cereals: a survey. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B, Soil and Plant Science* 53:168-176.

Komission asetus (EY) N:o 1881/2006, annettu 19 päivänä joulukuuta 2006, tiettyjen elintarvikkeissa olevien vierasaineiden enimmäismäärien vahvistamisesta