

## Kvantitatiivinen PCR-pikamääritysmenetelmä viljojen *Fusarium-homeille*

Tapani Yli-Mattila<sup>1</sup>, Päivi Parikka<sup>2</sup>, Taina Lahtinen<sup>1</sup>, Sari Rämö<sup>3</sup>, Meri Kokkonen<sup>4</sup>, Aldo Rizzo<sup>4</sup>, Marika Jestoi<sup>4</sup> ja Veli Hietaniemi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Turun yliopisto, Biologian laitos, Kasvifysiologia ja molekyylibiologia, 20014 Turku [tymat@utu.fi](mailto:tymat@utu.fi)

2)MTT Kasvintuotannon tutkimus, Peltokasvitutkimus, 31600 Jokioinen, [paivi.parikka@mtt.fi](mailto:paivi.parikka@mtt.fi)

3) Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira), Kemian ja toksikologian tutkimusyksikkö, Mustialankatu 3, 00790 Helsinki, [marika.jestoi@evira.fi](mailto:marika.jestoi@evira.fi), [meri.kokkonen@evira.fi](mailto:meri.kokkonen@evira.fi)

4)MTT laboratoriot, 31600 Jokioinen, [sari.ramo@mtt.fi](mailto:sari.ramo@mtt.fi), [veli.hietaniemi@mtt.fi](mailto:veli.hietaniemi@mtt.fi)

*Fusarium*-punahomeiden mykotoksiineista voi olla haittaa sekä eläimille että ihmisille. Niinpä punahomeisen viljan käyttöä pitäisi välttää. Eläimet ja ihmiset voivat altistua punahomeille, mikäli sadonkorjuu myöhästyy. Pahimmat seuraukset tulevat, jos puidaan ylivuotista punahomeista viljaa keväällä kuten Suomenkin lähialueilla entisessä Neuvostoliitossa jouduttiin paikoitellen tekemään toisen maailmansodan aikana. Tällöin viljaan muodostui korkeita T-2-toksiinipitoisuuksia. Tärkeää punahomeiden kehittymiselle on myös mm. kukkimisajan sää.

EU:ssa on vuonna 2006 määritetty ensimmäiset enimmäismäärärajat *Fusarium*-punahomeiden mykotoksiinimääriin viljoissa deoksinivalenolille (DON) ja tsearalenonille (ZEN). Toksiinimääritykset ovat kuitenkin kalliita ja hitaita. Niinpä teollisuus tarvitsee uusia ja nopeampia pikamääritysmenetelmiä suuren mykotoksiini-riskin omaavien viljaerin löytämiseen tutkittavista viljanäytteistä.

PCR-menetelmät ovat jo rutiinikäytössä toksiineja tuottavien bakteerien määrityksessä elintarvikkeista, mutta toksiineja tuottaville sienille ne ovat vasta kehitteillä. Työn tarkoituksena oli selvittää, onko *Fusarium*-punahomeiden ja mykotoksiinien määrien välillä korrelaatiota ja voiko punahomeiden DNA-määristä päätellä, miten suuri riski on sille, että viljassa on suuria mykotoksiinipitoisuuksia.

Erittäin merkitsevä korrelaatio löytyi *Fusarium graminearum*-punahomeen ja DNA:n ja DONin välillä kauralla, kevätvehnällä ja ohralla. Kun *F. culmorum*-DNA-määrä yhdistettiin *F. graminearum*-DNA:n määrään, korrelaatio parani hieman ohralla, joten ainakin ohralla myös *F. culmorum*-punahomeen määrällä on vaikutusta DON-pitoisuuteen. Kummankin punahomeen tiedetään tuottavan DONia, mutta *F. graminearum*-kannat ovat yleensä tehokkaampia DON-tuottajia. Myös HT-2- ja T-2-mykotoksiinien ja niitä tuottavien *Fusarium sporotrichioides*- ja *F. langsethiae*-punahomeiden DNA-määrien välillä oli erittäin merkitsevä korrelaatio kauralla, jolla on havaittu korkeimmat HT-2- ja T-2-pitoisuudet. Lisäksi korrelaatiota havaittiin nivalenolin ja *F. poae*-punahomeen DNA-pitoisuuden välillä kauralla ja ohralla.

Suomen yleisimpiä punahomeita (*F. avenaceum* ja *F. tricinctum*) on pidetty mykotoksiinituottoon kykenemättöminä, mutta viime vuosina niiden on havaittu tuottavan mm. moniliformiinia (MON) ja enniatiineja. Havaitsimme merkitsevän korrelaation *F. avenaceum*-punahomeen DNA-määrän ja MON- ja enniatiini-pitoisuuksien välillä ohralla ja kevätvehnällä.

*Fusarium*-punahomeiden määrän vaihteluita kasvukauden aikana tutkittiin ohralla ja kauralla Jokioisilla. *Fusarium*-punahomeiden DNA-määrän kasvu alkoi kukinnan jälkeen. Vuonna 2005 *F. poae*-punahome oli vallitseva ja *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-lajien DNA-määrä alkoi laskea ennen sadonkorjuuta, kun taas kuivana vuonna 2006 kaikkien *Fusarium*-punahomelajien määrä jatkoi nousua sadonkorjuuseen asti. Suorakylvö lisäsi *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-punahomeiden määrää vuonna 2006 verrattuna perinteiseen muokkaukseen.

Asiasanat: DNA, viljat, mykotoksiinit, punahomeet

## Johdanto

*Fusarium*-homeet ovat tärkeimpiä toksineja tuottavia homeita viljoissa pohjoisen pallonpuoliskon lauhkeilla vyöhykkeillä (McMullen ym., 1997, Langseth ym., 1999, Bottalico ja Perrone, 2002, Goswami ja Kistler, 2004). *Fusarium*-homeita esiintyy etenkin viljoissa ja maississa, joista kyseisen homesuvun muodostamia lukuisia toksineja yleisesti löytyy. *Fusarium*-homeiden tuottamista mykotoksiineista tunnetuimpia ovat trikotekeenit, kuten deoksinivalenoli (DON), nivalenoli (NIV) sekä T-2- ja HT-2 -toksiinit. Muita *Fusarium*-toksiineja ovat mm. estrogeninen tsearalenoni (ZEN), fumonisiinit, fusariinit ja moniliformiini (Jestoi ym., 2004, 2007). *Fusarium*-sienet säilyvät myös maassa ja satojätteissä pitkään, joten niiden määrä vähenee merkittävästi vain monipuolisessa kasvinvuorotuksessa. Punahomeiden taudinkestävyydessä on eroja viljalajien ja -lajikkeiden välillä. Täysin resistenttejä lajikkeita ei kuitenkaan ole. Punahomeet aiheuttavat viljoilla sato- ja laatutappioita, sillä jyvät voivat jäädä kehittymättä, ovat rypyisiä, väriltään punertavia tai harmaita. Tauti heikentää viljan leipoutuvuutta ja itämistä. Lisäksi sienten tuottamat homemyrkyt, mykotoksiinit ovat terveystarve ihmisille ja eläimille (Yli-Mattila ym., 2004a,b,c, 2007a,b).

Viljojen *Fusarium*-homeita ja niiden tuottamia toksineita on tutkittu viime vuosina aktiivisesti Euroopassa ja Yhdysvalloissa. Tällä hetkellä viljojen *Fusarium*-kontaminaation tason määrittämiseksi on käytettävissä erilaisia kokonaisten jyvien ja jauhettujen jyvien viljelymenetelmiä. Menetelmät ovat työläitä, aikaa vieviä ja ei-kuantitatiivisia. Varsinaista *Fusarium*-lajianalyysiä ei yleensä tehdä, vaikka tiedetään, etteivät kaikki *Fusarium*-lajit ole yhtä haitallisia, esim. niiden kyky tuottaa mykotoksiineja vaihtelee. *Fusarium*-lajien tunnistaminen perinteisin menetelmin vaatii erityisosaamista ja on työlästä.

EU:ssa on vuonna 2006 määrätty ensimmäiset enimmäismäärärajat *Fusarium*-punahomeiden mykotoksiinimääriin viljoissa deoksinivalenolille (DON) ja tsearalenonille (ZEN). EU:ssa on tulossa uusia enimmäismäärärajoja vuonna 2006. Sallittu DONin enimmäismäärä on ohralla ja vehnällä 1250 ppb ja kauralla 1750 ppb ja lastenruuissa 200 ppb. Jatkossa vastaavia enimmäismääriä tulee muillekin punahomeiden tuottamille mykotoksiineille, kuten esim. HT-2- ja T-2-toksiineille. Mykotoksiinien kemiallinen analyysi kromatografisin menetelmin on varsin kallista ja työlästä, joten käytännössä ei ole mahdollista tutkia kaikkia teollisuuden käyttöön tulevia viljaeriä näillä menetelmillä. Niinpä tarvitaan edullisempia pika-analyysijärjestelmiä, joista käyttöön on elintarviketeollisuudessa jo otettu entsyymi-immunomäärityksiä (ELISA) DONin, fumonisiinin ja tsearalenonin määrittämiseen. Fumonisiinia-tuottavia punahomeita ei ole yleensä löytynyt suomalaisesta viljasta.

Viime vuosina molekyylibiologiset tekniikat ovat yleistyneet homeanalytiikassa. Monille haitallisille *Fusarium*-lajeille on kehitetty spesifiset DNA-alukkeet käytettäväksi ei-kuantitatiivisissa PCR (Polymerase Chain Reaction) –sovelluksissa. Lisäksi on kehitetty spesifisiä alukkeita lajinsisäisten ryhmien erotteluun. Tämän projektin tavoitteena oli kehittää kvantitatiivisia, reaaliaikaisia PCR-menetelmiä haitallisten/toksigeenisten *Fusarium*-homeiden määrittämiseksi viljanäytteistä käyttäen hyväksi jo olemassa olevia ryhmä-/lajispesifisiä alukkeita. PCR-testeistä olisi hyötyä erityisesti kasvinjalostuksessa, mallastamoissa sekä lastenruokien raaka-aineen puhtauden testaamisessa. Ennen sadonkorjuuta tehdyt PCR-testit voisivat puolestaan ennakoita tulevan sadon laatua *Fusarium*-toksiinien suhteen.

## Aineisto ja menetelmät

### Viljanäytteet

Tulokset perustuvat FinMycoprojektin ja turvallisuusindikaattoriprojektin aineistoihin. FinMycoprojektin näytteistä analysoitiin 173 kpl. Niistä 31 oli vehnää, 67 ohraa ja 73 kauraa). Ne oli kerätty eri puolilta Suomea vuosina 2005 ja 2006.

Turvallisuusindikaattoriprojektin näytteitä analysoitiin yhteensä 96 kpl vuosien 2004-2006 aikana.

#### **DNA-eristys**

DNA eristettiin joko jyvien pinnasta (Yli-Mattila ym., 2007a) tai jauhetuista jyvistä (50-100 mg, Yli-Mattila ym, 2007c). Kummassakin tapauksessa käytettiin Genelute™ Plant Genomic DNA Kit-menetelmää (Sigma).

#### **Reaaliaikainen TaqMan PCR**

TM<sub>poae</sub>-alukkeet ja koetin oli suunniteltu *F. poae*-punahomeelle spesifiselle IGS-alueelle, kun taas *F. graminearum*-punahomeen TMFg12-alukkeet ja -koetin oli suunniteltu sille spesifiselle RAPD-PCR-tuotteelle (Yli-Mattila ym, 2007b). *F. avenaceum*-punahomeelle spesifiset TMAV-alukkeet ja -koetin, *F. sporotrichioides*/*F. langsethiae*-punahomeelle spesifiset TMLAN-alukkeet ja -koetin sekä trikotekeenejä tuottaville *Fusarium*-punahomeille spesifiset TMTRI-alukkeet ja -koetin (Halstensen ym., 2006) sekä *F. culmorum*-punahomeelle spesifiset culmorumMGB-alukkeet ja -koetin (Waalwijk ym., 2004) olivat myös käytössä. DNA:n monistukseen käytettiin GeneAmp 5700-laitetta.

#### **Mykotoksiinianalyysit**

Mykotoksiinimääritykset tehtiin Eskola ym. (2001), Hietaniemi ym. (2004) ja Jestoi ym. (2003, 2005) mukaisesti.

#### **Mykologiset analyysit**

*Fusarium*-spesifistä PCNB-alustaa (50 jyvää/näyte), jossa bakteerien kasvu oli estetty streptomysiinisulfaattilla, käytettiin punahomekantojen eristykseen viljanäytteistä vuonna 2003, kun taas 2002 (200 jyvää/näyte) jyvät pantiin ensin kostealle suodatinpaperille ja niistä kasvavat rihmastot siirrettiin PDA-maljoille. Saastuneiden jyvien määrä laskettiin kahden viikon kasvatuksen jälkeen suodatinpaperilla (Yli-Mattila ym., 2004b, Parikka ym., 2005). Tämän jälkeen punahomeet eristettiin ja tunnistettiin makroskooppisten ja mikroskooppisten tuntomerkkien perusteella MTT:ssä.

#### **Tilastolliset analyysit**

$R^2$  (selitysaste) ja p (regressiosuoran kulmakertoimen merkitsevyys) laskettiin SigmaPlot 2001 (versio 7.1, SPSS Inc)-ohjelman avulla. DNA-määrät ja mykotoksiinipitoisuudet muutettiin logaritmisiksi (log +1), jotta niiden jakauma saatiin tasaisemmaksi.

## **Tulokset ja tulosten tarkastelu:**

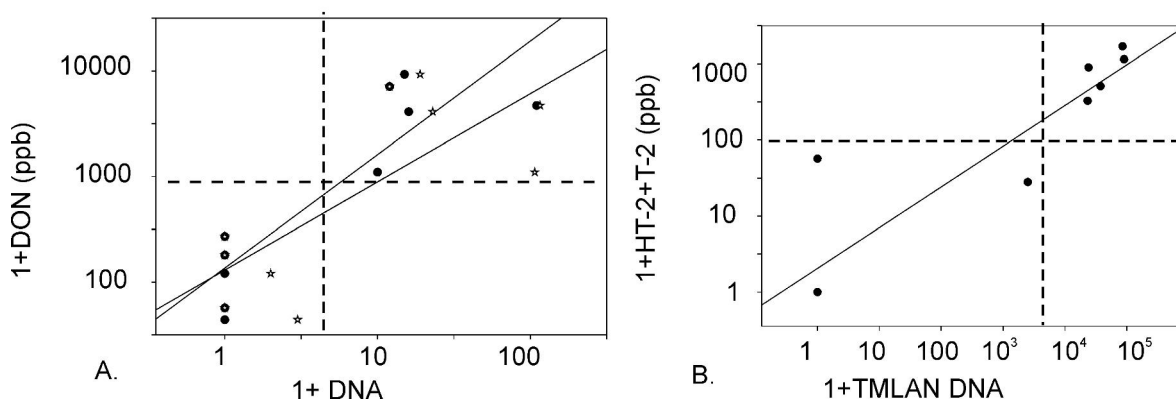
#### **Korrelaatio Fusarium-DNA:n mykotoksiinipitoisuuksien välillä.**

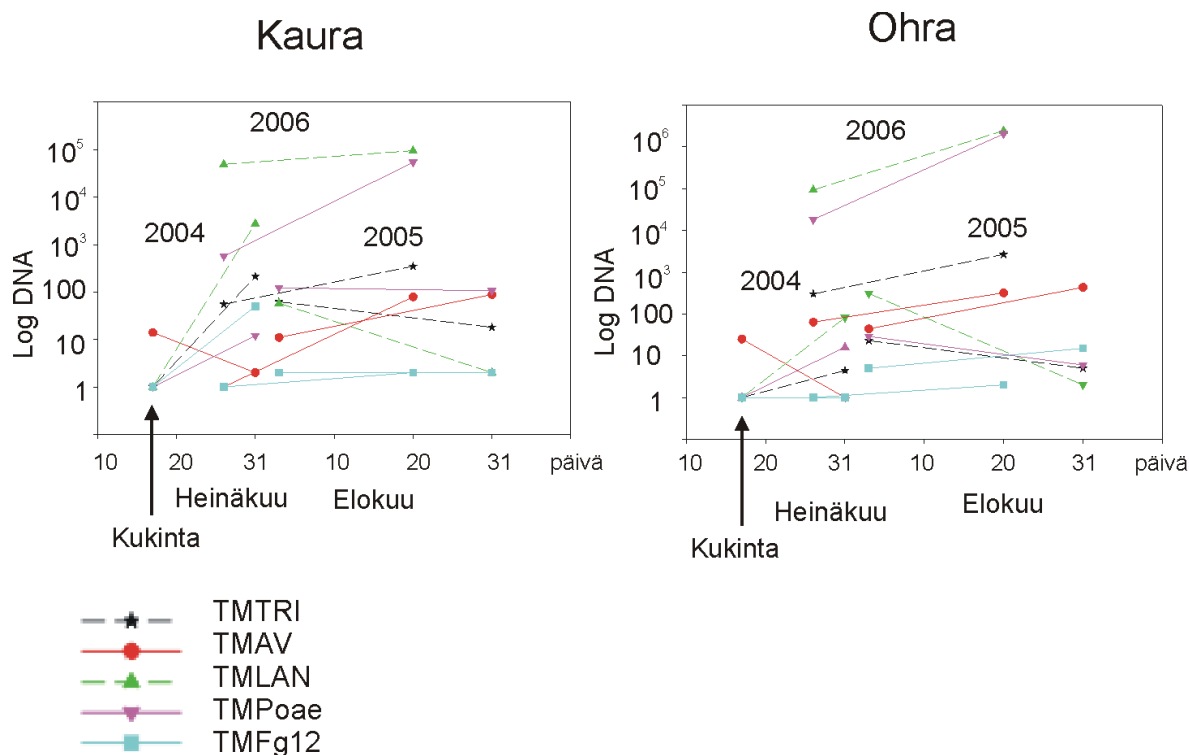
Tulokset on esitetty taulukossa 1. Korrelaatio DONin ja *F. graminearum*-punahomeen välillä oli erittäin merkitsevä kauralla, ohralla ja kevätvehnällä, kun DNA eristettiin jyvien pinnasta. Ohralla myös *F. culmorum*-punahomeella oli merkitystä DON-tuotannossa, sillä selitysaste nousi, kun *F. culmorum*-DNA lisättiin *F. graminearum*-DNA:han. Selitysaste oli yli 40 % myös HT-2/T-2-mykotoksiinien ja *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-punahomeiden DNA:n välillä sekä enniatiinien ja *F. avenaceum*-DNA:n ja enniatiinien välillä. Kaikissa näissä tapauksissa myös korrelaatio oli erittäin merkitsevä. Myös useissa muissa tapauksissa korrelaatio oli merkitsevä mykotoksiinipitoisuuksien ja *Fusarium*-DNA-pitoisuuksien välillä. DNA:ta eristettiin myös jauhetuista jyvistä. Näytemäärä oli tällöin pienempi, mikä laski tulosten merkitsevyysarvoja, mutta selitysasteet olivat yleensä jopa parempia kuin silloin, kun DNA eristettiin jyvien pinnasta. Esimerkiksi *F. graminearum* DNA:n ja DONin välinen selitysaste oli 0.78 ja *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides* DNA:n ja HT-2/T-2-toksiinien välinen selitysaste oli 0.84 kauralla, kun DNA-mittaus tehtiin jauhetuista jyvistä (Taulukko 1, kuva 1).

Vilja	TMTRI/ DON	<i>F.gram.</i> / DON	<i>F.gram.</i> + <i>F.culm.</i> /DON	<i>F. poae</i> / NIV	<i>F. langs.</i> + <i>F.sporot.</i> / HT-2+T-2	<i>F. avenaceum</i> / MON	<i>F. avenaceum</i> / ENNs
	R <sup>2</sup> , p (n)	R <sup>2</sup> , p (n)	R <sup>2</sup> , p (n)	R <sup>2</sup> , p (n)	R <sup>2</sup> , p (n)	R <sup>2</sup> , p (n)	R <sup>2</sup> , p (n)
<b>K-vehnä</b>							
Pinta	0.007, 0.68 (25)	<b>0.61, 0.002**</b> (12)	<b>0.56, 0.006**</b> (11)	Ei korrelaatiota (11)	Ei korrelaatiota (11)	0.30, 0.003** (27)	<b>0.54, &lt;0.0001***</b> (27)
Jauhettu	0.66, 0.06 (6)	0.88, 0.06 (4)	Ei korrelaatiota (3)	Ei korrelaatiota (4)	Ei korrelaatiota (4)	0.60, 0.12 (5)	0.73, 0.06 (5)
<b>Ohra</b>							
Pinta	0.078, 0.03* (64)	<b>0.53, 0.0009***</b> (17)	<b>0.60, 0.0003***</b> (17)	0.07, 0.21 (21)	0.19, 0.075 (20)	0.29, <0.0001*** (55)	<b>0.45, &lt;0.0001***</b> (55)
Jauhettu	0.28, 0.18 (8)	0.54, 0.06 (6)	<b>0.99, 0.001**</b> (4)	0.69, 0.041* (6)	0.51, 0.11 (6)	Ei korrelaatiota (5)	0.60, 0.20 (4)
<b>Kaura</b>							
Pinta	0.0005, 0.86 (69)	<b>0.49, 0.0002***</b> (25)	<b>0.46, 0.0004***</b> (25)	0.20, 0.03* (24)	<b>0.41, 0.0008***</b> (24)	0.10, 0.10 (60)	0.25, <0.0001*** (60)
Jauhettu	0.16, 0.06 (23)	<b>0.78, 0.0001***</b> (11)	<b>0.57, 0.012*</b> (11)	0.42, 0.03* (11)	<b>0.84, &lt;0.0001***</b> (11)		

Taulukko 1. Yhdistetyt tulokset korrelaatiotuloksista *Fusarium* DNA- ja mykotoksiinitulosten välillä vuosina 2005-2006. DNA-määritykset joko jyvän pinnalta tai jauhetuista jyvästä. n = jyvänäytteiden lukumäärä. R<sup>2</sup> (= selitysaste) ilmaisee, kuinka suuri osa mykotoksiinimäärän vaihtelusta johtuu sen riippuvuudesta *Fusarium*-DNA:sta. p = regressiosuoran kulmakertoimen merkittävyys. Suurimmat R<sup>2</sup>/p-arvot on merkitty punaisella värillä

Kuva 1. Korrelaatio *F. graminearum* DNA- ja DON-pitoisuuden (mustat ympyrät), *F. graminearum*/*F. culmorum* DNA- ja DON-pitoisuuden (valkoiset tähdet, vasemmalla) ja *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-DNA- ja HT-2/T-2-pitoisuuden (oikealla) välillä kauralla (jauhetut jyvät). DNA-pitoisuudet 10<sup>-6</sup> ng ng<sup>-1</sup> kokonais-DNA. Mykotoksiinipitoisuudet ppb. Regressiosuorat on merkitty.





Kuva 2. *Fusarium*-DNA-pitoisuudet kaura- ja ohraruuduilla Jokioisilla vuosina 2005-2006. TMTRI = trikotekeneita tuottavat *Fusarium*-punahomeet. TMAV = *F. avenaceum*. TMLAN = *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*, TM<sub>poae</sub> = *F. poae*, TMF<sub>g12</sub> = *F. graminearum*.

### **Kasvukauden aikaiset muutokset ja muokkauskokeiden vaikutus**

*Fusarium*-punahomeiden DNA-määrän kasvu alkoi kukinnan jälkeen. Vuonna 2005 *F. poae*-punahome oli vallitseva ja *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-lajien DNA-määrä alkoi laskea ennen sadonkorjuuta, kun taas kuivana vuonna 2006 kaikkien *Fusarium*-punahomelajien määrä jatkoi nousuaan sadonkorjuuseen asti (kuva 2). Suorakylvö lisäsi *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-punahomeiden määrää vuonna 2006 verrattuna perinteiseen muokkaukseen kauralla ja ohralla. Vaikutus näkyi jo 3-4 viikkoa ennen sadonkorjuuta sekä puidussa viljassa. *F. poae*-punahomeiden määrä puolestaan lisääntyi kyntömuokatuilla koeruuduilla suorakylvöruutuihin verrattuna, mikä näkyi varsinkin 3-4 viikkoa ennen sadonkorjuuta otetuista näytteistä vuosina 2005 ja 2005. Käsittely prokloloratsi-fungisidilla (Sportak 45 HF) lippulehtivaiheessa viikkoa ennen kukintaa vähensi TMLAN-DNA-määrää sekä kauralla että ohralla. Korkeimmat *F. avenaceum*-DNA-määrät havaittiin puinnin aikaan.

### **Johtopäätökset**

*F. graminearum*-DNA:n ja DONin välinen korrelaatio oli erittäin merkitsevä kauralla, ohralla ja kevätvehnällä. Myös selitysaste oli *F. graminearum*-DNA:n ja DONin välillä n. 50 % (49-61 %), kun DNA eristettiin jyvien pinnasta. Selitysaste nousi jopa 78 %:iin (kaura), kun DNA eristettiin jauhetuista jyivistä ja 99 %:iin (ohra), kun DNA eristettiin jauhetuista jyivistä ja mukaan otettiin myös *F. culmorum* DNA. Kauralla ja kevätvehnällä *F. culmorum* ei ollut merkittävä DON-tuottaja. Kauralla selitysaste oli 84 % verrattaessa *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-lajien DNA-määrää HT-2/T-2-toksiinien määrään jauhetuilla jyvillä. Myös *F. avenaceum*-DNA:n ja enniatiinien korrelaation selitysaste oli yli 60 % sekä kevätvehnällä

että ohralla käytettäessä jauhettuja jyvää. Tulosten varmistaminen vaatisi jatkotutkimuksia useammilla jyvänäytteillä. Korrelaatiota ja selitystasetta voitaisiin saada korkeammaksi myös optimoimalla DNA-eristysmenetelmiä ja DNA-standardin mittaustarkkuutta ja käyttämällä sisäistä standardia (Waalwijk ym., 2004).

*Fusarium*-DNA-määrät alkoivat kasvaa kukinnan jälkeen Jokioisten peltokokeessa. Vuonna 2006 kasvu jatkui sadonkorjuuseen asti, mutta vuonna 2005 *F. langsethiae*-DNA-määrät alkoivat vähentyä jo ennen puintia, mikä ilmeisesti johtui siitä, että muut lajit kasvoivat sen yli. Korkeita *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-pitoisuuksia havaittiin jo kahden viikon kuluttua kuinnasta vuonna 2004. Kyntömuokkaus lisäsi *F. poae*-DNA:n määrää vuosina 2005-2006 suorakylvöön verrattuna, kun taas *F. langsethiae*/*F. sporotrichioides*-DNA:n määrä kasvoi suorakylvetyillä lohkoilla kynnetyihin lohkoihin verrattuna varsinkin vuonna 2006.

### Kirjallisuus:

- Bottalico, A. & Perrone, G.** 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108: 611-624.
- Eskola, M., Parikka, P. & Rizzo, A.** 2001. Trichothecenes, ochratoxin A and zearalenone contamination and *Fusarium* infection in Finnish cereal samples in 1998. *Food Additives and Contaminants* 18: 707-718
- Goswami, R.S. & Kistler, C.**, 2004.. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular Plant Pathology* 5: 515-525.
- Halstensen, A.S., Nordby, K.C., Eduard, W., & Klemsdal S.S.** 2006. Real-time PCR detection of toxigenic *Fusarium* in airborne and settled grain dust and associations with trichothecene mycotoxins. *Journal of Environmental Monitoring* 8: 1235-1241.
- 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
- Jestoi, M., Paavanen-Huhtala, S., Uhlig, S., Rizzo, A. & Yli-Mattila, T.** 2004. Mycotoxins and cytotoxicity of Finnish *Fusarium* strains grown on rice cultures. In: Canty SM, Boring T, Wardwell J and Ward RW (Eds.), *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on Fusarium Head Blight; incorporating the 8<sup>th</sup> European Fusarium seminar; 2004, 11-15; Orlando, FL, USA. Michigan State University, East Lansing, MI.* pp. 405-409.
- Jestoi, M., Paavanen-Huhtala, S., Parikka, P. & Yli-Mattila, T.** 2007. *In vitro* and *in vivo* mycotoxin production of *Fusarium* isolated from Finnish grains. – *Archives of Phytopathology and Plant Protection* (in press).
- Jestoi, M., Rokka, M., Rizzo, A., Peltonen, K., Parikka, P. & Yli-Mattila, T.** 2003. Moniliformin in Finnish grains: Analysis with LC-MS/MS. *Aspects of Applied Biology* 68: 211-216
- Jestoi, M., Rokka, M., Rizzo, A., Peltonen, K. & Aurasari, S.** 2005. Determination of *Fusarium* mycotoxins beauvericin and enniatins with liquid chromatography –tandem mass spectrophotometry (LC-MS/MS). *Journal of Liquid Chromatography and related techniques* 28: 369-381.
- Langseth, W., Bernhoft, A., Rundberget, T., Kosiak, B. & Gareis, M.** 1999. Mycotoxin production and cytotoxicity of *Fusarium* strains isolated from Norwegian cereals. *Mycopathologia* 144: 103-113.
- McMullen M., Jones, R. & Gallenberg, D.** 1997. Scab of Wheat and Barley: A Re-emerging Disease of Devastating Impact. *Plant Disease* 81: 1340-1346.
- Parikka, P., Hietaniemi, V. & Rämö, S.** 2005. The effect of tillage on *Fusarium* infection and mycotoxins on barley and oats. *Proceedings of the BCPC International Congress- Crop Science and Technology 2005*, pp 423-428. Glasgow, Scotland, 31 Oct-2 Nov 2005.
- 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. & Kema, G.H.J.** 2004. Quantitative detection of *Fusarium* species in wheat using TaqMan. *European Journal of Plant Pathology* 110: 481-494

- Yli-Mattila, T.** 2004a. Kvantitatiivinen PCR-pikamääritysmenetelmä viljojen *Fusarium*-homeille. – Pikafus-Tekes-projektin loppuraportti (No. 40168/03).
- Yli-Mattila, T., Paavanen-Huhtala, S., Parikka, P., Hietaniemi, V., Jestoi, M. & Rizzo, A.** 2004b. Toxigenic fungi and mycotoxins in Finnish cereals. In: Logrieco A and Visconti A (eds) An overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Europe. (pp. 83-100) Kluwer Academic Publishers, The Netherlands
- Yli-Mattila, T., Paavanen-Huhtala, S., Parikka, P., Hietaniemi, V., Jestoi, M. & Rizzo, A.** 2004c. Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae* as compared to mycotoxin production in grains in Finland. In: Canty SM, Boring T, Wardwell J and Ward RW (Eds.), Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on *Fusarium* Head Blight; incorporating the 8<sup>th</sup> European *Fusarium* seminar; 2004, 11-15; Orlando, FL, USA (pp. 422-425). Michigan State University, East Lansing, MI.
- Yli-Mattila, T. & Paavanen-Huhtala, S.** 2007a. Molecular identification and detection of plant pathogenic and toxigenic *Fusarium* fungi. In " The Biodiverse World of Fungi (Ed. by B.N. Ganguli and S.K. Deshmukh) Anamaya Publishers, New Delhi- 110030, India and their counter part in UK (pp. 82-111).
- Yli-Mattila, T., Paavanen-Huhtala, S., Parikka, P., Hietaniemi, V., Jestoi, M., Gagkaeva, T., Sarlin, T., Haikara, A, Laaksonen, S.. & Rizzo, A.** 2007b. Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* as compared to mycotoxin production in grains in Finland and Russia. – Archives of Phytopathology and Plant Protection (in press, online published January 17, 2007).
- Yli-Mattila, T., Parikka, P., Lahtinen, T., Rämö, S., Kokkonen, M., Rizzo, A., Jestoi, M & Hietaniemi, V.** 2007c. *Fusarium* DNA levels in Finnish grains. In Gherbawy Y. (Ed.), Current Advances in Molecular Mycology (manuscript submitted).