

Fusariumsvampar och dess toxiner i svenskodlad vete och havre

– rapport från kartläggningstudie 2009-2011

av Elisabeth Fredlund och Mats Lindblad

Projektgrupp

Livsmedelsverket

Mikrobiologienheten, Undersökningsavdelningen

Elisabeth Fredlund, projektledare

Ann Gidlund

Paula Ågren

Jenny Spång, examensarbete

Risk- och Nyttoutvärderingsavdelningen

Mats Lindblad

Jordbruksverket

Växt- och miljöavdelningen

Cecilia Lerenius

Lantmännen Lantbruk

Thomas Börjesson

Innehåll

Sammanfattning	3
Summary	4
Inledning	5
Faktorer som påverkar toxinbildning	5
Mögelsvampar inom släktet <i>Fusarium</i>	6
Fusariumsvampar i ett förändrat klimat	6
Hälsorisker förknippade med fusariumtoxiner	7
Kvantitativ PCR och kemiska multimetoder	7
Gällande lagstiftning och gränsvärden	8
Kontroll av mykotoxiner i spannmål och spannmåls-baserade livsmedel	9
Branschriktlinjer	10
Studiens syfte och mål	11
Genomförande	12
Provtagning av spannmål	12
Hantering och malning av spannmålsprov	13
Analys av mögelsvampar	13
Endogen infektion	13
Detektion och haltbestämning av specifika toxinbildande fusariumarter	13
Detektion och haltbestämning av genotypen 3-ADON, 15-ADON och NIV	13
Detektion och haltbestämning av mykotoxiner	14
Statistisk analys av resultaten	14
Resultat	15
Väderförhållanden under perioden	15
Endogen infektion av spannmålskärnorna	15
Förekomst och halter av mykotoxinbildande fusariumarter	16
Havre	16
Vårvete	18
Höstvete	20
Förekomst och halter av mykotoxiner i spannmålsprov	22
Havre	22
Vårvete	24
Höstvete	26
Samband mellan halter av svampar och av toxiner	28
Havre	28
Vete	28
Förekomst av 3ADON och 15ADON samt olika DON genotyper	30
Diskussion	31
Årlig variation	31
Geografisk variation	31
Viktigaste toxinbildande arterna	32
DON, ZEA, <i>F. graminearum</i> och <i>F. culmorum</i>	32

ENNER, MON, <i>F. avenaceum</i> och <i>F. tricinctum</i>	32
<i>F. poae</i> , NIV och BEA	33
<i>F. langsethiae</i> , T-2 och HT-2	33
Behov av mer kunskap och övervakning.....	33
Referenser	34

Sammanfattning

Rapporten beskriver kartläggningen av fusariumsvampar och deras mykotoxiner i svenskodlad havre och vete. Kartläggningen gjordes under åren 2009, 2010 och 2011 i projektet ”Nationell samverkan kring klimatrelaterad smittspridning av mykotoxiner”. Projektet finansierades av anslag 2:4 för krisberedskap.

Fusariumsvampar infekterar spannmål redan på fältet och under tillväxten bildas mykotoxiner som kan framkalla cancer, sätta ned immunförsvaret och störa reproduktionen hos både människor och djur. De viktigaste faktorerna som påverkar svamparnas tillväxt är temperaturen och tillgången på vatten, faktorer som man tror förändras till följd av de pågående klimatförändringarna.

Spannmål är en mycket viktig basråvara för att producera till exempel bröd, pasta, mjöl och frukostprodukter, men också som foder till djur som producerar kött, mjölk och ägg. Högre halter av fusariumsvampar och dess toxiner i spannmål innebär därmed inte bara ett högre intag av giftiga ämnen för svenska konsumenter utan också stora ekonomiska förluster för lantbrukarna och negativa hälsoeffekter för djuren. Dessutom får det konsekvenser för tillgången av svenskodlad spannmålsråvara.

Under början på 2000-talet kom rapporter om en ökad förekomst av svampen *Fusarium graminearum* i norra Europa, en svamp som tidigare endast var etablerad i regioner med varmare klimat. *F. graminearum* men även andra fusariumsvampar producerar mykotoxinerna DON (deoxynivalenol) och ZEA (zearalenon). För dessa toxiner finns europeiska gränsvärden, det vill säga en fastställd halt i livsmedel som inte får överskridas. Även förekomst av andra mykotoxiner, så kallade ”emerging toxins”, har rapporterats från våra grannländer.

Syftet med studien var att få kunskap om förekomsten och halterna av fusariumsvampar i havre och vete och i vilken omfattning de producerar mykotoxiner. Detta som en utgångspunkt för en framtida övervakning av klimatförändringarnas effekter på svamparnas tillväxt och toxinbildning. Genom att använda moderna metoder som kvantitativ PCR och en kemisk multitoxinmetod kunde sju arter av *Fusarium* och åtta av deras mykotoxiner haltbestämmas i varje prov.

Resultaten visade att samtliga spannmålsprov innehöll ett flertal fusariumsvampar och toxiner men att mängden varierade mellan spannmålsslag, år och provtagningsplats. Endast ett fåtal prov överskred gällande gränsvärden. Det fanns ett starkt samband mellan mängden DON och svampen *F. graminearum* vilket bekräftar att svampen är etablerad även i Sverige och producerar DON i både vete och havre. De genomsnittliga halterna av DON var högst 2011 och i västra Sverige för samtliga år och spannmålsslag, resultat som stämmer överens med spannmålsbranschens egna mätningar.

Tillsammans med resultat från branschens egna undersökningar visar denna studie att angreppen av *F. graminearum* och produktionen av DON ökar i Sverige. En nationell övervakning av denna utveckling är därför viktig. Resultaten pekar också på behovet av mer forskning om de faktorer som påverkar svamparnas tillväxt och toxinbildning.

Summary

To investigate the presence of toxicogenic *Fusarium* species and their toxins in oats, spring wheat and winter wheat, samples were taken from harvested grain at grain delivery stations and field trials. The geographical origin of the samples was classified as South, West and East Sweden. In total, 93 samples of oats and 61 samples of spring wheat were collected in 2010 and 2011, and 64 samples of winter wheat in 2009 and 2011. Samples were analyzed by quantitative PCR for DNA concentrations of seven *Fusarium* species. Toxin analysis was performed by using an HPLC/ESI-MS /MS method that can detect a variety of fungal metabolites.

Deoxynivalenol (DON) was present in most samples, whereas zearalenone (ZEA) was less common. T-2 and HT-2 toxins were relatively common in oats, and nivalenol (NIV), moniliformin (MON), beauvericin (BEA) and enniatins (ENN) commonly occurred in different crops in different years. *Fusarium poae* and *F. avenaceum* were the most frequent *Fusarium* species, present in nearly all samples. *F. graminearum* was also common all years and in all crops, whereas *F. tricinctum*, *F. culmorum* and *F. langsethiae* were common in some years in certain crops. The occurrence of *F. sporotrichoides* was consistently low.

The average concentrations of DON and *F. graminearum* were as high or higher in 2011 compared to 2010 and 2009, while the levels of several other toxins and *Fusarium* species were lower in 2011 than other years. Levels of DON and *F. graminearum* were also higher in western Sweden than in other regions. This is consistent with the experience of practical farming, but the reason for the higher levels of DON and *F. graminearum* in western Sweden is not known.

Although both *F. graminearum* and *F. culmorum* have the ability to form DON there was mainly a connection between the levels of *F. graminearum* and concentrations of DON. *F. culmorum* could, however, in some years and in certain crops contribute significantly to the production of DON.

F. langsethiae was among the most frequent *Fusarium* species in oats and its strong association with T-2 and HT-2 toxins confirms that *F. langsethiae*, and not *F. sporotrichoides*, is most important for the formation of these toxins in oats from northern Europe.

Overall, the results show that several different species and *Fusarium* toxins present in oats and wheat. The variation in concentrations between years also indicates that *F. graminearum*, the species that is most important to the formation of DON in Sweden, is favored by other growth factors than other *Fusarium* species. Further studies are needed to explain the higher incidence of *F. graminearum* in western Sweden compared with other regions. The full results of the study are available in two scientific publications (30, 31).

Inledning

Fusariumsvampar och deras toxiner är vanliga i spannmål i hela världen. Flera arter av *Fusarium* kan bilda mykotoxiner¹ varav trikotecener, zearalenon och fumonisiner är de viktigaste. Fumonisiner är främst förknippade med fusariumangrepp i majs medan trikotecener och zearalenon kan förekomma både i stråsäd och majs. Olika arter av *Fusarium* kan även ge upphov till så kallad axfurios² i samtliga spannmålssorter vilket ger skördenedsättning och därmed ekonomisk förlust för lantbrukaren.

I Sverige påvisas högst halt av mykotoxiner i vete och havre (1). Vete är den viktigaste grödan i Sverige med en odlingsareal på drygt 400 000 hektar och en total skördevolym på drygt 2 miljoner ton, varav vårvete utgör cirka 10 procent av den totala skördevolymen. I Sverige är havre den tredje mest odlade grödan efter höstvetete och vårkorn med en total skördevolym på knappt 700 000 ton under 2011 (2). Havre är framförallt en viktig fodergröda men används även till livsmedel och då främst som havreflingor i frukostflingor eller gröt.

De viktigaste fusariumtoxiner i svenskodlad spannmål är trikotecenerna deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV), T-2 och HT-2 toxin samt zearalenon (ZEA). DON är en viktig kontaminant i både vete och havre medan NIV, T-2 och HT-2 toxiner är vanligare i havre än i vete. Höga halter av ZEA är mer ovanliga än höga halter av DON men det kan förekomma i både havre och vete.

Den geografiska spridningen skiljer sig åt mellan olika toxiner. Till exempel verkar T-2 och HT-2-toxiner vara vanligare i norra Europa (3), medan DON orsakar problem i hela världen (4).

Till de mer okända fusariumtoxiner hör till exempel moniliformin (MON), enniatiner (ENN) och beauvericin (BEA) vilka ibland omnämns som ”nya” eller ”emerging” (5-7). Det är dock inte troligt att dessa toxiner nyligen etablerat sig i norra Europa men med hjälp av nya metoder kan de nu påvisas och kvantifieras och kunskapen om deras förekomst ökar.

Faktorer som påverkar toxinbildning

Vilka faktorer som påverkar tillväxt och toxinbildning av fusariumsvampar är inte helt utrett. DON i vete är det fusariumtoxin som är mest studerat och de faktorer som lyfts fram i branschriktlinjerna (1) som de viktigaste för toxinbildning är väderlek under blomningen, skörderester på markytan och växtföljd. Mycket regn i kombination med värme under blomningen bedöms öka risken för produktion av DON (1). Även skördetidpunkt, sortval, kemisk bekämpning samt torknings- och lagringsförhållanden påverkar men tros vara av mindre betydelse. Eftersom vädret är en avgörande faktor för tillväxt och toxinbildning av *Fusarium* kan höga halter toxiner påvisas även om lantbrukaren vidtagit alla tänkbara åtgärder. Vissa arter av *Fusarium*, bland annat *F. graminearum* vilken är den viktigaste producenten av DON, har förmåga att föröka sig genom att bilda askosporer. Askosporer har högre överlevnadsförmåga än vanliga förökningssporer (så kallade konidiesporer) och kan eventuellt överleva i skörderester på jordytan under vintern men spelar också en viktig roll för spridning av svampen.

Det finns flera modeller för prediktion av DON bildning i vete och som baseras på väderdata och odlings tekniska faktorer (8-10). I havre verkar situationen vara mer komplicerad och vid en

¹ Mykotoxiner är ämnen som bildas av mögelsvampar och som är giftiga för människor och djur.

² Synliga angrepp av *Fusarium* på spannmålsaxet.

analys av vilka agronomiska och klimatiska faktorer som påverkar DON i havre i Skandinavien fann man att mycket lite av variationen kunde förklaras av dessa faktorer (11).

Mögelsvampar inom släktet *Fusarium*

Svampar från släktet *Fusarium* beskrivs oftast som fältsvampar, det vill säga mögelsvampar som infekterar grödan redan på fält, men det finns även exempel på att *Fusarium* kan tillväxa under lagringen. Många arter är växtpatogener och orsakar olika typer av sjukdomssymptom hos växten men vissa arter kan även kolonisera växten utan att orsaka sjukdom, till exempel *F. langsethiae*. Även spannmålsslag och krav på framförallt temperatur och luftfuktighet avgör i vilka grödor och geografiska områden fusariumarterna etablerar sig.

Vanligt förekommande fusariumarter i Sverige är bland annat *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. langsethiae* och *F. tricinctum*. Av dessa kan både *F. graminearum* och *F. culmorum* bilda trikotecenen DON och ZEA, *F. poae* kan bilda NIV, *F. langsethiae* trikotecenerna T-2 och HT-2 toxin och *F. avenaceum* och *F. tricinctum* både MON och ENN. Även arten *F. sporotrichoides* kan bilda T-2 och HT-2 toxin men denna art är inte vanligt förekommande i Sverige.

Även inom en art kan det förekomma en viss geografisk spridning av olika stammar. För DON-producerande fusariumarter, det vill säga *F. graminearum* och *F. culmorum*, finns tre olika genotyper; 15-ADON, 3-ADON och NIV-genotyp (12). Detta innebär att de utöver DON även bildar 15-ADON, 3-ADON (så kallade DON kemotyper), eller NIV. Genotypen 15-ADON är den mest utbredda i Europa (13-15) och i många andra länder men 3-ADON har rapporterats dominera i norra Europa (16, 17) och Japan (9, 18, 19).

Fusariumsvampar i ett förändrat klimat

Enligt statens offentliga utredning ”Sverige inför klimatförändringarna – hot och möjligheter” från 2007 (20) förväntas framtida klimatförändringar medföra en ökad medeltemperatur och en ökad mängd nederbörd. En sådan förändring kan komma att leda till en ökad tillväxt av toxinbildande svampar vilket kan utgöra ett hot mot djur- och människohälsa men också mot den lokala livsmedelsproduktionen. Angrepp kan leda till skördenedsättning och till att stora mängder livsmedel måste kasseras på grund av höga toxinhalter. Högre genomsnittliga toxinhalter och extremhalter leder till en ökad exponering av toxiner för både människor och djur.

En förskjutning av dagens geografiska spridning av olika mögelarter förväntas ske, med en ökad etablering av de arter som nu finns i södra Europa till mellersta Europa och vidare en ökad etablering av arter från mellersta Europa till norra Europa. En förändring i artsammansättningen har redan skett genom att *F. graminearum*, som tidigare inte förekom i norra Europa, har etablerat sig i de nordiska länderna och övertagit rollen som huvudsaklig DON producent från *F. culmorum*. Även inom arten *F. graminearum* har man kunnat påvisa en förändring i den geografiska spridningen av olika genotyper. I Nordamerika där detta studerats har man kunnat påvisa att 3-ADON ersätter 15-ADON i vissa regioner (21, 22).

Utöver artsammansättningen är det svårt att förutsäga hur toxinhalterna kommer att påverkas med ett förändrat klimat. Det viktigaste är att det finns en kontinuerlig övervakning samt en beredskap för en framtida ökning av mögel och mykotoxiner.

Hälsorisker förknippade med fusariumtoxiner

Kunskapen om mykotoxiners effekt på människors hälsa varierar mycket mellan olika ämnen. För de reglerade toxinerna, det vill säga de för vilka det finns gränsvärden, finns generellt sett mer kunskap om deras toxicitet än för de icke-reglerade. För att studera vilka effekter ett mykotoxin kan ha på människa använder man sig i första hand av data från djurstudier, men eftersom människor och djur kan vara olika känsliga använder man sedan olika säkerhetsfaktorer för att kompensera för denna osäkerhet. Ju större osäkerhet som finns i de tillgängliga studierna och ju allvarigare skada som kan misstänkas, desto högre säkerhetsfaktorer tillämpas. Den toxikologiska utvärderingen av mykotoxiner på europeisk nivå görs av den europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet Efsa (European Food Safety Authority) och på internationell nivå av riskvärderingsorganet JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives).

Det är inte ovanligt att vissa typer av livsmedel, till exempel spannmålsbaserade produkter, innehåller låga halter av mykotoxiner, men dessa låga halter är vanligtvis inget som konsumenterna påverkas av. Vid höga halter kan dock vissa mykotoxiner ge akuta effekter. Exempelvis kan DON orsaka diarré, illamående och magsmärtor vid intag som vida överstiger det normala. Vid lägre koncentrationer och konsumtion under lång tid kan både DON, NIV, T2- och HT-2 toxin påverka immunförsvaret. ZEA har en östrogenliknande effekt och kan orsaka fertilitetsstörningar.

Mykotoxiners effekt på djurhälsa är ofta bättre dokumenterad och symptomen mer uttalade. Höga halter DON i foder förknippas med matvägran, kräkningar, viktsförlust och diarré. Hur uttalade symptomen blir beror av dos och individens känslighet. Höga halter ZEA i foder kan orsaka fertilitetsproblem, särskilt i gris med bland annat spontana aborter som följd.

Mykotoxiner som saknar gränsvärden och som förekommer i spannmål har relativt nyligen uppmärksammats under beteckningen ”emerging toxins” och omfattar bland annat MON, BEA och ENN. För dessa, men även för många andra mykotoxiner, saknas generellt både förekomstdata och toxicitetsstudier på djur för att kunna utföra en fullgod riskbedömning. För några av dessa har kunskapssammanställningar gjorts, till exempel för MON och NIV från 2009 (23) och för T-2 och HT-2 toxin från 2011 (24).

Den internationella vetenskapliga WHO-kommittén IARC (International Agency for Research on Cancer) har utvärderat DON, ZEA och T-2 med avseende på cancerframkallande förmåga och klassat dessa ämnen inom klass 3³.

Kvantitativ PCR och kemiska multimetoder

Kvantifiering av fusariumarter i livsmedel och foder med traditionella odlingsmetoder kräver särskild sakkunskap, erfarenhet och tid och är beroende av levande sporer och hyffragment som kan tillväxa på odlingssubstratet. De flesta fusariumsvampar är snabbväxande vilket försvårar både beräkning av antalet kolonibildande enheter och identifikation av de arter som finns i

³ Placeringen i klass 3 används oftast för ämnen för vilka beläggen för cancerframkallande egenskaper är otillräckliga i människor och otillräcklig eller begränsad i försöksdjur. Placeringen i denna klass innebär ofta att det krävs ytterligare forskning för att säkert uttala sig om ämnets cancerframkallande förmåga (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Preamble, 2006)

provet. Med kvantitativ PCR är det möjligt att påvisa mängden av specifika toxinbildande fusariumarter utan behov av odling och isolering av svamparna.

Mykotoxiner analyseras vanligtvis med HPLC baserade metoder som kan detektera en till ett fåtal metaboliter per analys. På grund av höga analyskostnader utförs vanligtvis endast analys av reglerade mykotoxiner inom både kartläggningsstudier och kontroll. En ny teknik, LC-MS/MS, har blivit mer och mer populär på grund av att man med minimal eller ingen upprensning alls kan detektera och kvantifiera ett stort antal metaboliter i samma prov och till en rimlig kostnad. Noggrann kvantitativ analys med LC-MS/MS har visat sig vara möjlig från prov av vete, majs och havre (25, 26). Denna metod har möjliggjort analys av MON, BEA, ENN, NIV, T2 och HT-2 toxin, DON och ZEA i samma analys.

Gällande lagstiftning och gränsvärden

För att begränsa förekomsten av mögelgifter i livsmedel finns ett EU-regelverk som inkluderar provtagning, importkontroll och gränsvärden. Gränsvärden för flera fusariumtoxiner är upprättade för spannmålsbaserade livsmedel och anges i förordning (EG) nr 1881/2006. För foder finns inte lagstadgade gränsvärden utan istället kommissionens rekommenderade gränsvärden enligt (EC) 576/2006. Det finns även rekommendationer för förebyggande och begränsning av fusariumtoxiner i spannmål och spannmålsprodukter, (EC) 583/2006. En förkortad version av gränsvärden som gäller DON och ZEA och som omfattas av förordningen 1881/2006 ges i tabell 1.

Tabell 1. Gränsvärden för mykotoxiner i spannmål enligt förordning (EG) nr 1881/2006 om fastställande av gränsvärden för vissa främmande ämnen i livsmedel samt exempel på rekommenderade värden för T-2 och HT-2 enligt EU Kommissionens rekommendation nr 165/2013 om förekomst av T-2 och HT-2 i spannmål och spannmålsprodukter.

Mögelgift	Typ av livsmedel	Värde (µg per kg)
DON	Obearbetad spannmål annan än durumvete, havre och majs	1250
	Obearbetad durumvete och havre	1750
	Spannmål avsedd för direkt konsumtion (tex mjöl, pasta)	750
	Bröd, kakor, kex, snacks och frukostflingor av spannmål	500
	Bearbetade spannmålsbaserade livsmedel och barnmat för spädbarn och småbarn	200
ZEA	Obearbetad spannmål annan än majs	100
	Spannmål avsedd för direkt konsumtion	75
	Bröd, kakor, kex, snacks och frukostflingor av spannmål	50
	Bearbetade spannmålsbaserade livsmedel och barnmat för spädbarn och småbarn	20
T-2/HT-2	Obearbetad spannmål havre/vete	1000/100
	Spannmål för direkt konsumtion havre/övrig spannmål	200/50
	Spannmålsbaserade produkter för barn	15

Under flera år har diskussioner förts inom EU kommissionens expertgrupp för jordbrukskontaminanter när det gäller ett eventuellt gränsvärde för fusarium-toxinerna T-2 och HT-2. I slutet på 2011 kom ett nytt utlåtande från Efsa (27) där de konstaterar att exponeringen för både vuxna och barn är låg men att tillgången på haltdata är begränsad. Under 2013 kom EU kommissionen därför med en rekommendation (EU 165/2013) om att medlemsländerna ska utföra övervakning av dessa toxiner, trots att det inte finns något gränsvärde.

Kontroll av mykotoxiner i spannmål och spannmåls-baserade livsmedel

Den offentliga kontrollen delas upp i kontroll av livsmedelsanläggningar inom primärproduktionen och kontroll av livsmedelsanläggningar i senare led. Kontrollen som rör primärproduktionen utförs av Länsstyrelserna medan den som rör företag i senare led utförs av kommunerna eller Livsmedelsverket beroende på vilken anläggning det gäller. Kontroll av kommersiellt tillverkat foder utförs av Jordbruksverket.

Vägledning till offentlig kontroll av primärproduktion, oavsett om det ska gå till foder eller livsmedel, ges utifrån en riskklassificeringsmodell som finns beskriven i vägledningen ”Riskklassificering av livsmedelsföretag och foderföretag inom primärproduktionen” (28). I modellen ingår spannmål i prioritetssklass 1, det vill säga förebyggande och riskreducerande åtgärder inom primärproduktionen har stor betydelse för livsmedelssäkerheten. Mykotoxiner pekas ut som signifikant hälsofara och fokus ligger på kontroll av förebyggande åtgärder. Vägledning till kontroll i de led som följer efter primärproduktionen ges baserat på en annan riskklassificeringsmodell (29).

Sedan inträdet i EU och i och med den EU-gemensamma livsmedelslagstiftningen (EG) 178/2002 (artikel 14 och 19) har livsmedelsföretagen det primära ansvaret för att hälsovådliga produkter inte når marknaden. Den offentliga kontrollen, både i primärproduktionen och senare i livsmedelsproduktionen, är i första hand inriktad på att kontrollera hur företagens egen kontroll fungerar, till exempel att de gränsvärden som finns efterlevs, företagens system för HACCP⁴, deras kontroll av torkning- och lagringsförhållanden, eventuell egen provtagningsplan och deras leverantörskrav. Provtagning och analys används aldrig eller mycket sällan som kontrollmetod.

Den offentliga kontrollen omfattar även de nationella övervakningsprogram som utförs årligen av Livsmedelsverket och Jordbruksverket, vilket under 2012 omfattade cirka 60 prov av spannmålsbaserade livsmedel respektive 80 prov av kommersiellt tillverkat foder.

När gränsvärdesöverskridande mykotoxinhalter påvisas inom den offentliga kontrollen rapporteras det in i det EU-gemensamma informationssystemet RASFF⁵ och partiet tas bort från marknaden.

Branschriktlinjer

Som stöd till Sveriges primärproducenter av spannmål har spannmålsbranschen tillsammans med SLU, Hushållnings-sällskapet och Jordbruksverket tagit fram branschriktlinjer för hur fusariumtoxiner ska undvikas i spannmål. Riktlinjerna uppdateras årligen (1) och finns tillgängliga på respektive organisations webbplats men även via Livsmedelsverket (www.livsmedelsverket.se).

⁴ Hazard Analysis and Critical Control Points

⁵ Rapid Alert System for Food and Feed, http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index_en.htm.

Studiens syfte och mål

Studiens *syfte* var att kartlägga förekomsten av toxinbildande fusariumarter och deras toxiner i svenskodlad vete och havre, inklusive förekomsten av oreglerade toxiner som moniliformin, beauvericin, nivalenol och enniatiner, som utgångspunkt för framtida övervakning av klimatförändringars eventuella effekt på mögel och mykotoxinförekomst.

Studiens *mål* var att samla in prov av vete och havre från minst två skördeår och att analysera dessa prov med avseende på förekomsten av toxinbildande fusariumarter och deras toxiner samt att studera deras geografiska spridning och samband sinsemellan.

Resultaten har även presenterats i två vetenskapliga artiklar:

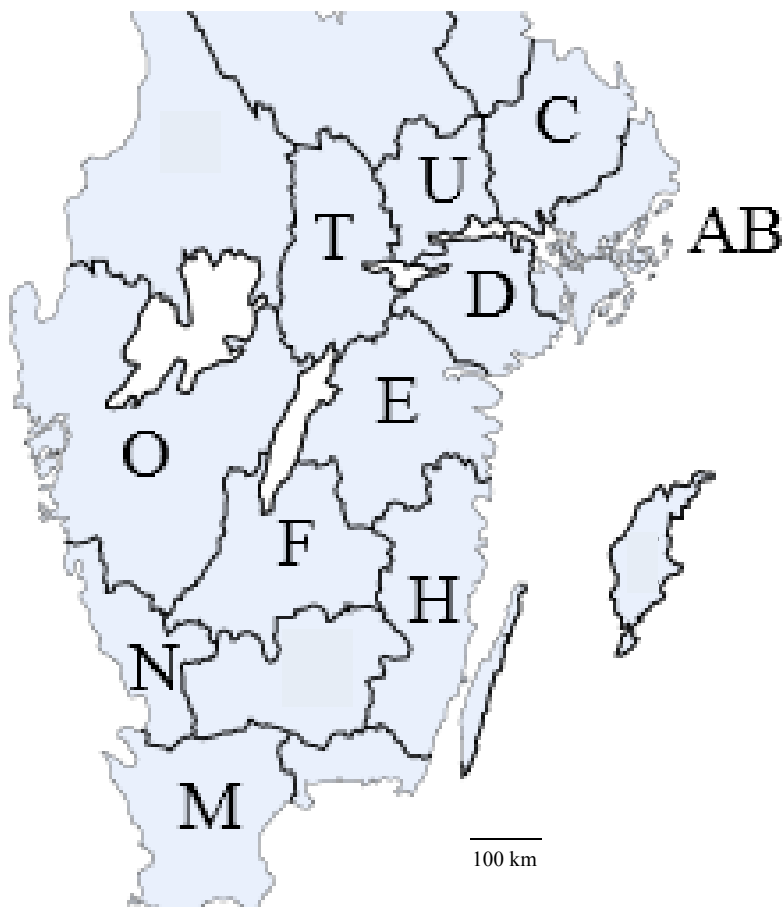
- Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish wheat
– Occurrence and correlation to specific *Fusarium* species (30).
- Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish oats
– Occurrence and correlation to specific *Fusarium* species (31)

Genomförande

Provtagning av spannmål

Prov av skördad spannmål togs i samband med leveranser till Lantmännens spannmålsmottagningar och från Hushållningssällskapets fältförsök. Baserat på skillnader i allmänna klimatförhållanden delades provtagningsplatserna in i tre regioner; södra Sverige (län F, H, M och N), västra Sverige (län O) och östra Sverige (län AB, C, D, E, T och U) (Figur 1). Väderdata för juli och augusti samlades in från SMHI:s väderstationer i Malmö (södra), Skara (västra) och Västerås (östra). Dessa månader utgör den ungefärliga perioden mellan blomning, som normalt inträffar i slutet av juni eller början av juli, och tiden för skörd vilket normalt inträffar i augusti eller i början av september.

Sammanlagt togs 93 prov av havre och 61 prov av vårvete från skördarna 2010 och 2011, samt 64 prov av höstvete från skördarna 2009 och 2011 (Tabell 2).



Figur 1. Län som ingick i kartläggningen.

Tabell 2. Spannmålsprov från fältförsök och spannmålsmottagningar tagna mellan 2009 och 2011

År	Region	Höstvete	Vårvete	Havre
2009	Södra	11	-	-
	Västra	8	-	-
	Östra	12	-	-
2010	Södra	-	7	11
	Västra	-	6	18
	Östra	-	15	21
2011	Södra	12	11	9
	Västra	3	3	10
	Östra	18	19	24
Summa	Sverige	64	61	93

Hantering och malning av spannmålsprov

Spannmålsproven (1-2 kg för prov från spannmålsmottagningar, cirka 200 g för prov från fältförsök) förvarades i kyl (8°C) efter ankomst till Livsmedelsverket och fram till malning. Cirka 200 spannmålskärnor togs ut för mykologisk odlingsanalys innan det resterande provet maldes i sin helhet. Proven maldes i två steg, först i kvarnen RAS® Mill (Romer) till finaste kornstorleken. Därefter maldes ett delprov på 50 g i en Delongi kaffekvarn till ett fint pulver. Malda prover förvarades i frys (-20°C) fram till analys.

Analys av mögelsvampar

Endogen infektion

Andelen infekterade spannmålskärnor analyserades genom att 50 till 100 omallda kärnor från varje prov ytdesinficerades i 10 procent natrium-hypoklorit, torkades på filterpapper och placerades på agarplattor med CZID (Czapek-dox iprodion dikloran agar) respektive DG18 (dikloran 18 % glycerol). CZID är ett substrat där fusariumkolonierna får tydligare pigmentering och koloniutseende (32). Efter 7 dagars inkubation vid 25°C räknades antalet mögelinfekterade kärnor och angavs som procent infekterade kärnor. Infektionen delades även upp i kärnor infekterade med fältsvampar (exempelvis *Fusarium* och *Alternaria*) samt lagerskadesvampar (exempelvis *Penicillium* och *Aspergillus*).

Detektion och haltbestämning av specifika toxinbildande fusariumarter

Specifika arter av *Fusarium* detekterades med kvantitativa PCR baserade metoder som omfattade extraktion av nukleinsyra från spannmålsprovet och amplifiering av mål-DNA med arts specifika primrar och prober (30, 31). Mängden mål-DNA i provet kvantifierades sedan genom jämförelse mot en standardkurva med kända halter referens DNA från respektive art.

Detektion och haltbestämning av genotypen 3-ADON, 15-ADON och NIV

Förekomsten av de tre olika genotyperna av DON-bildande fusariumsvampar i svenskodlad vete och havre analyserades med kvantitativ PCR enligt Nielsen et al. (33). Halten av respektive

genotyp⁶ bestämdes i havre och vårvete från 2010 och 2011 samt höstvete från 2011 (totalt 78 prov av havre, 33 prov av höstvete och 51 prov av vårvete).

Detektion och haltbestämning av mykotoxiner

Analys av toxiner utfördes med hjälp av en HPLC/ESI-MS/MS-metod som kan detektera och kvantifiera 186 mykotoxiner och svampmetaboliter i spannmål (34). Analyserna utfördes av Dr Michael Sulyok vid IFA-Tulln (Department of Agrobiotechnology, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna). I Matkorsproverna kunde ingen utbyteskorrigering göras eftersom det inte fanns tillgång till negativa prov.

Statistisk analys av resultaten

Regionala och årliga skillnader i halterna av fusarium-DNA och mykotoxiner utvärderades med hjälp av General Linear Model (GLM) analys. Pearsons korrelationsanalys användes för att utvärdera samband mellan olika *Fusarium* arter och toxiner i enskilda prover. Data \log_{10} -transformerades före analys, eftersom halter av både fusarium-DNA och mykotoxiner i huvudsak inte var normalfördelade. Alla statistiska analyser genomfördes med Minitab Statistical Software, utgåva 15 (Minitab Inc., State College, PA, USA). Uppmätta halter av *Fusarium* DNA och mykotoxiner under kvantifieringsgränsen tilldelades värdet för kvantifieringsgränsen (30, 31).

⁶Mängden PCR produkt från den nukleinsyrasekvens på genen TRI12 som är unik för respektive genotyp (3ADON, 15ADON eller NIV).

Resultat

Väderförhållanden under perioden

Genomsnittliga temperaturer i juli och augusti var normala eller högre än normalt under alla år och i alla regioner. De högsta temperaturerna i juli uppmättes under 2010, medan skillnaderna mellan år var mindre i augusti. Temperaturerna i södra Sverige var oftast högre än i andra regioner, och lägre i västra Sverige. Mängden nederbörd skiljde sig mera än temperaturen mellan olika regioner. Överlag var nederbörden lägre 2009 än 2010 och 2011, och lägre i östra Sverige än i södra och västra Sverige (Tabell 3).

Tabell 3. Väderförhållanden i juli och augusti 2009-2011. Väderdata är hämtade från Malmö (södra Sverige), Skara (västra Sverige) och Västerås (östra Sverige)

År	Region	Medeltemperatur (°C)		Medelnederbörd (mm)	
		Juli	Augusti	Juli	Augusti
2009	Södra	19,0	18,4	37	55
	Västra	16,6	16,1	207	54
	Östra	17,6	16,9	86	82
2010	Södra	20,5	17,4	19	209
	Västra	18,3	15,6	155	169
	Östra	20,1	16,5	82	77
2011	Södra	17,3	16,8	153	131
	Västra	17,2	15,6	108	185
	Östra	18,5	16,4	70	128

Endogen infektion av spannmålskärnorna

Analys av endogen infektion visade att de flesta kärnorna infekterades av mögelsvampar redan i fält och att arter av *Fusarium* och *Alternaria* dominerade. Endast låga nivåer av mögelsvampar som infekterar spannmål under lagringen detekterades. På CZID var den totala infektionsgraden 100 procent i havrekärnorna och 98-99 procent i vetekärnorna. Andelen kärnor infekterade med *Fusarium* eller *Alternaria* var 96 procent för vårvete, 98 procent för höstvetet och 100 procent för havrekärnorna.

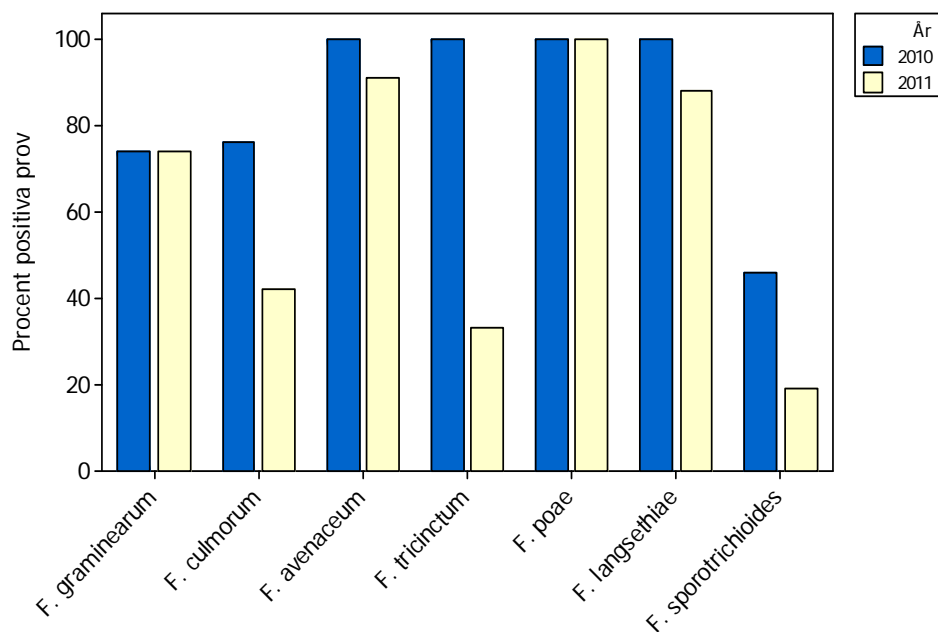
Förekomst och halter av mykotoxinbildande fusariumarter

Havre

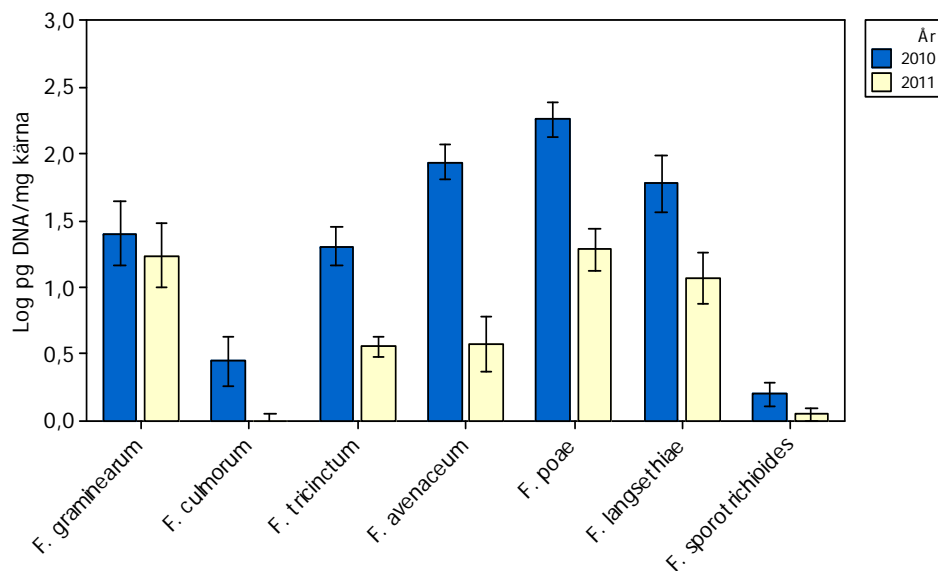
De vanligaste fusariumarterna var *F. poae*, som påvisades i halter över kvantifieringsgränsen i alla prover, samt *F. langsethiae* och *F. avenaceum*, som påvisades i alla prov från 2010 och i cirka 90 procent av proverna från 2011. *F. graminearum* var också vanligt förekommande och påvisades i cirka tre fjärdedelar av proverna båda åren. Förekomsten av andra arter varierade mer mellan åren. *F. tricinctum* och *F. culmorum* var vanligt förekommande 2010 men mer ovanliga 2011. Förekomsten av *F. sporotrichoides* var relativt låg båda åren, särskilt 2011 (Figur 2).

Den genomsnittliga koncentrationen av DNA för alla arter utom *F. graminearum* var signifikant (GLM, $P < 0,001$) högre 2010 än 2011 (Figur 3).

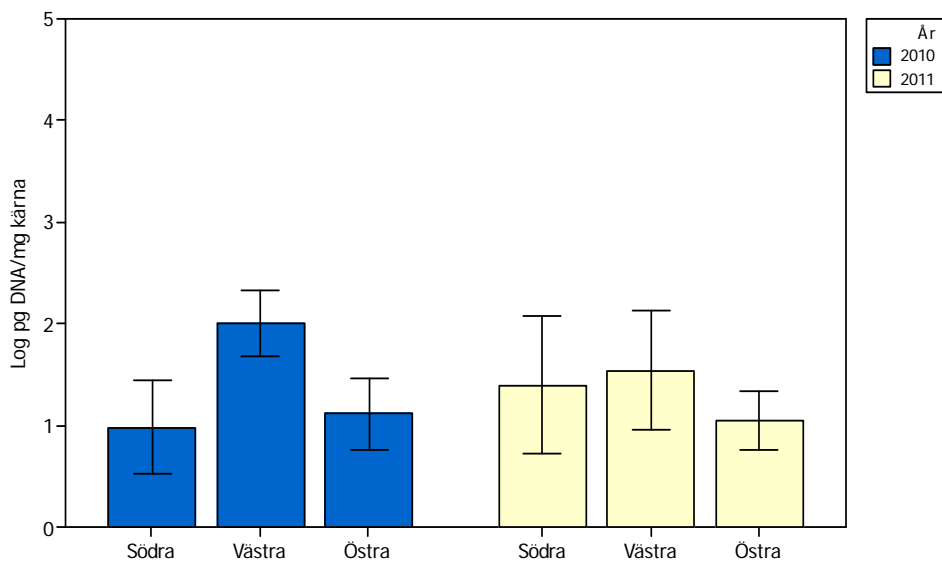
För vissa fusariumarter påvisades signifikanta regionala skillnader mellan genomsnittliga halter (GLM, $P < 0,05$, Tukey's test, $P < 0,05$). *F. graminearum* förekom till exempel i högre halt i prover från västra Sverige än från andra regioner (Figur 4). Halten DNA av *F. tricinctum* var högre i prover från södra Sverige än från andra regioner och halten DNA av *F. avenaceum* var högre i prover från södra än från östra Sverige.



Figur 2. Andel positiva prov av olika *Fusarium* arter i havre 2010 (n = 50) och 2011 (n = 43).



Figur 3. Genomsnittliga halter av DNA från olika *Fusarium* arter i havre 2010 (n = 50) och 2011 (n = 43). Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.



Figur 4.

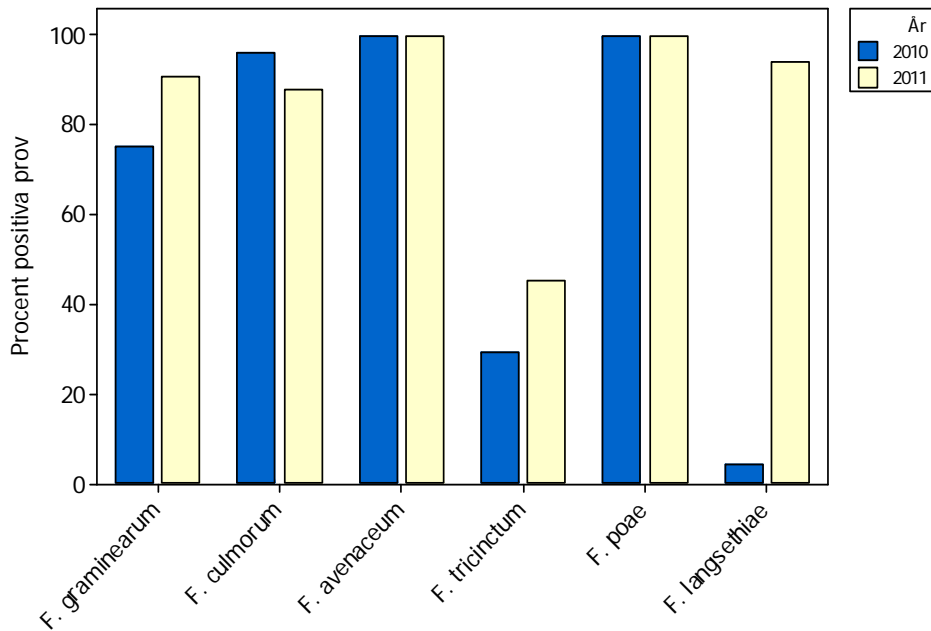
Genomsnittliga halter av DNA från *F. graminearum* i havre i södra (n = 20), västra (n = 28) och östra (n = 45) Sverige. Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.

Vårvete

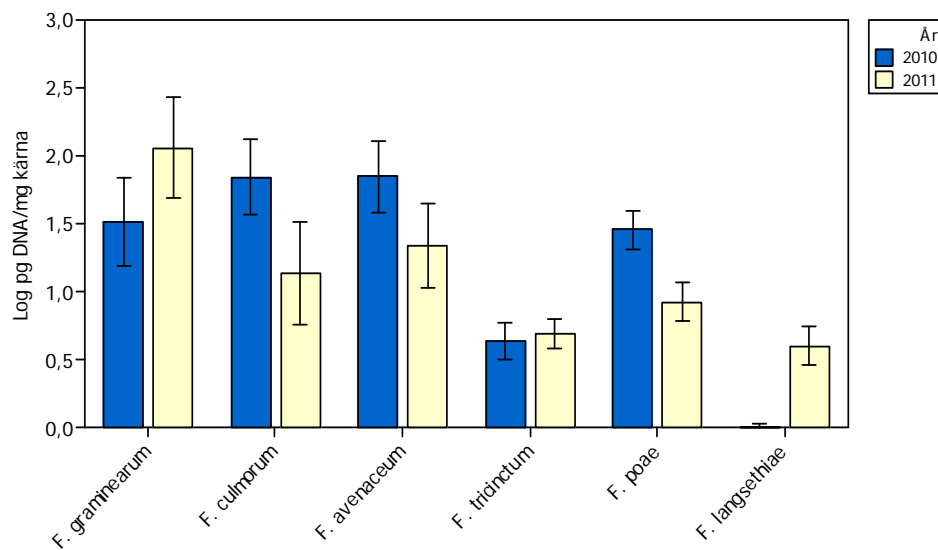
De vanligaste fusariumarterna var *F. poae* och *F. avenaceum*, som påvisades i halter över kvantifieringsgränsen i alla prover, samt *F. graminearum* och *F. culmorum* som påvisades i en stor andel av proven. Förekomsten av *F. langsethiae* varierade i hög grad mellan år, den var ovanlig 2010 men påvisades i nästan alla prov 2011. *F. tricinctum* påvisades i en relativt låg andel av proven (Figur 5). Endast ett fåtal prover var positiva för *F. sporotrichoides*.

Genomsnittliga halter av DNA från *F. culmorum* och *F. poae* var signifikant (GLM, $P < 0,01$) högre 2010 än 2011, medan halter av *F. graminearum* och *F. langsethiae* var signifikant (GLM, $P < 0,01$) högre 2011 än 2010 (Figur 6).

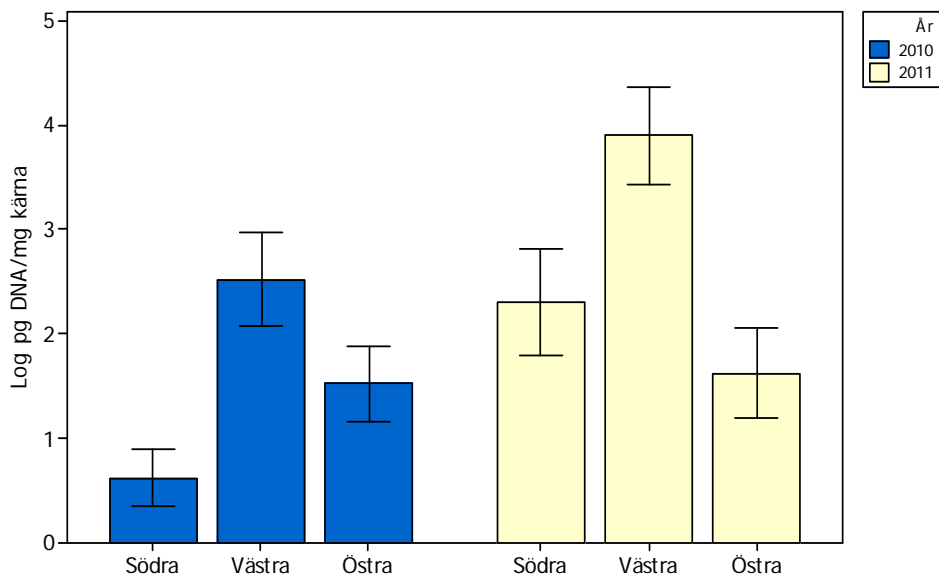
För vissa fusariumarter påvisades signifikanta regionala skillnader mellan genomsnittliga halter av DNA (GLM, $P < 0,05$, Tukey's test, $P < 0,05$). Halten DNA av *F. graminearum* var signifikant högre i prover från västra Sverige än från andra regioner (Figur 7), medan halten DNA av *F. tricinctum* var lägre i östra än i västra Sverige.



Figur 5. Andel positiva prov av olika arter av *Fusarium* i vårvete 2010 (n = 28) och 2011 (n = 33).



Figur 6. Genomsnittliga halter av fusarium-DNA i vårvete 2010 (n = 28) och 2011 (n = 33). Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.



Figur 7.

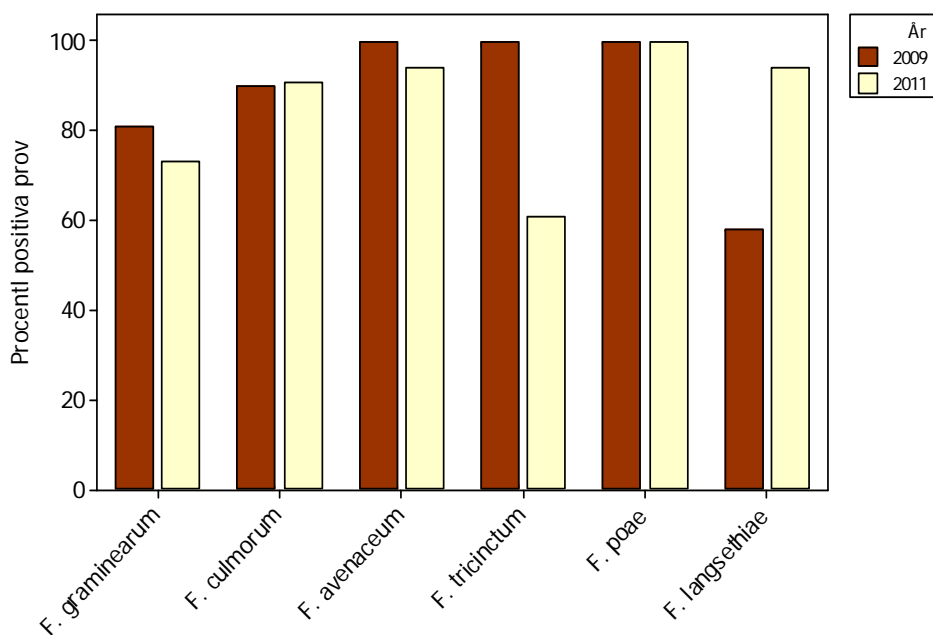
Genomsnittliga halter av DNA av *F. graminearum* i vårvete i södra (n = 18), västra (n = 9) och östra (n = 34) Sverige. Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.

Höstvete

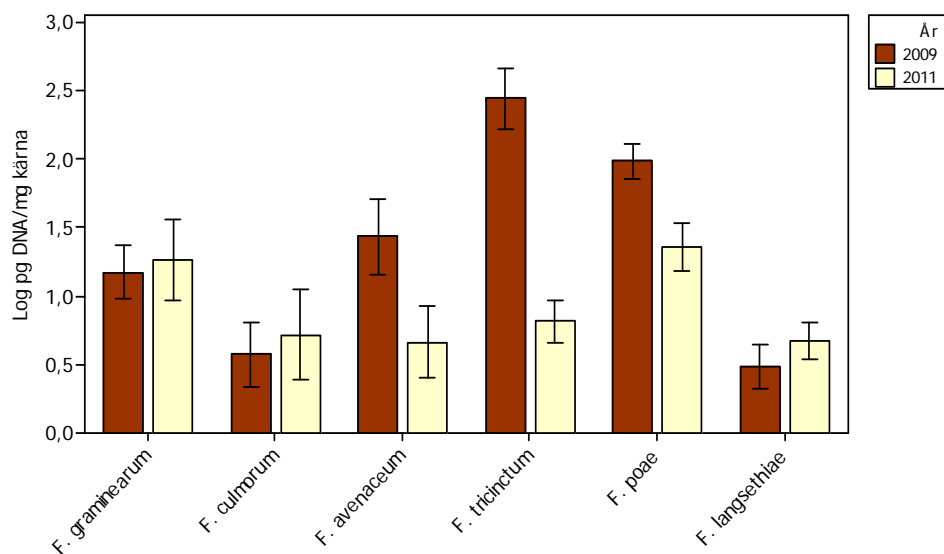
De vanligaste fusariumarterna var *F. poae* och *F. avenaceum*, som påvisades i halter över kvantifieringsgränsen i nästan alla prover, samt *F. graminearum* och *F. culmorum* som påvisades i en stor andel av proven. Förekomsten av andra arter varierade mellan år. *F. tricinctum* var vanligt förekommande 2009 men mer ovanlig 2011, medan det omvända gällde för *F. langsethiae* (Figur 8). Endast ett fåtal prover var positiva för *F. sporotrichoides*.

Genomsnittliga halter av DNA av *F. avenaceum*, *F. tricinctum* och *F. poae* var signifikant (GLM, $P < 0,01$) högre 2009 än 2011. Det fanns också en liten men signifikant (GLM, $P < 0,05$) skillnad i halter DNA av *F. graminearum* mellan år, där den genomsnittliga halten var högre 2011 än 2009 (Figur 9).

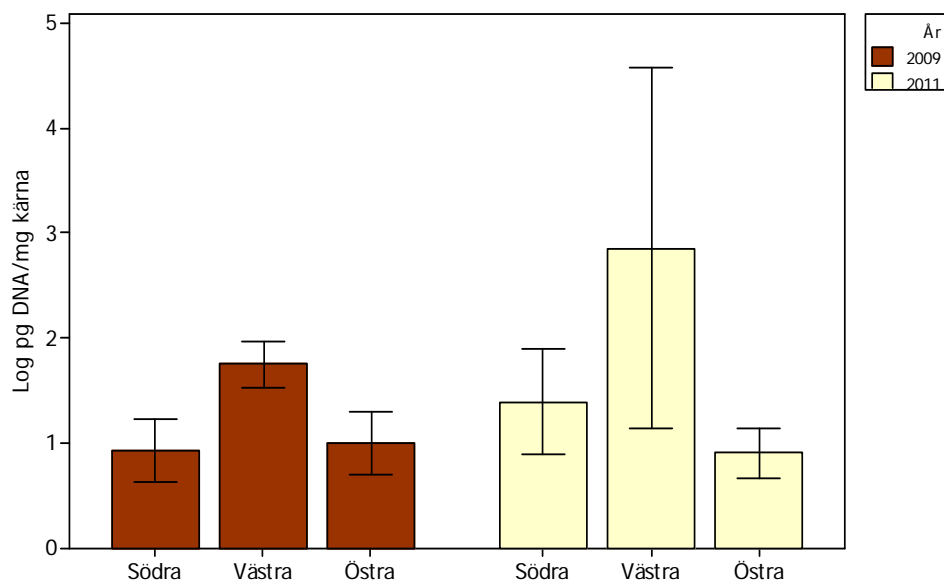
För vissa fusariumarter påvisades signifikanta regionala skillnader mellan genomsnittliga halter DNA från olika arter (GLM, $P < 0,001$, Tukey's test, $P < 0,01$). Halten DNA av *F. graminearum* var högre i prover från västra Sverige än från andra regioner (Figur 10), medan halten DNA av *F. langsethiae* var högre i södra Sverige än i andra regioner.



Figur 8. Andel positiva prov av olika arter av *Fusarium* i höstvete 2009 (n = 31) och 2011 (n = 33).



Figur 9. Genomsnittliga halter av fusarium-DNA i höstvetete 2009 (n = 31) och 2011 (n = 33). Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.



Figur 10. Genomsnittliga halter DNA av *F. graminearum* i höstvetete i södra (n = 23), västra (n = 11) och östra (n = 30) Sverige. Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.

Förekomst och halter av mykotoxiner i spannmålsprov

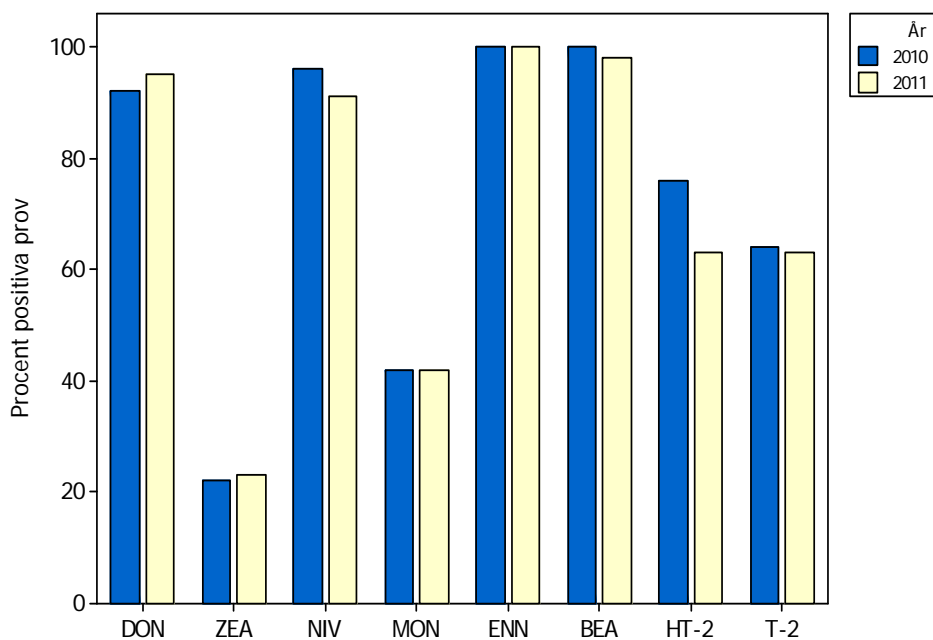
Havre

De vanligaste fusariumtoxiner var DON, NIV, BEA och ENN som påvisades i mer än 90 procent av proverna. T-2 och HT-2 påvisades i mer än hälften av proverna, medan ZEA och MON var mindre vanliga med en förekomst på cirka 20 respektive 40 procent. Förekomsten skiljde sig i stort sett inte mellan åren (Figur 11).

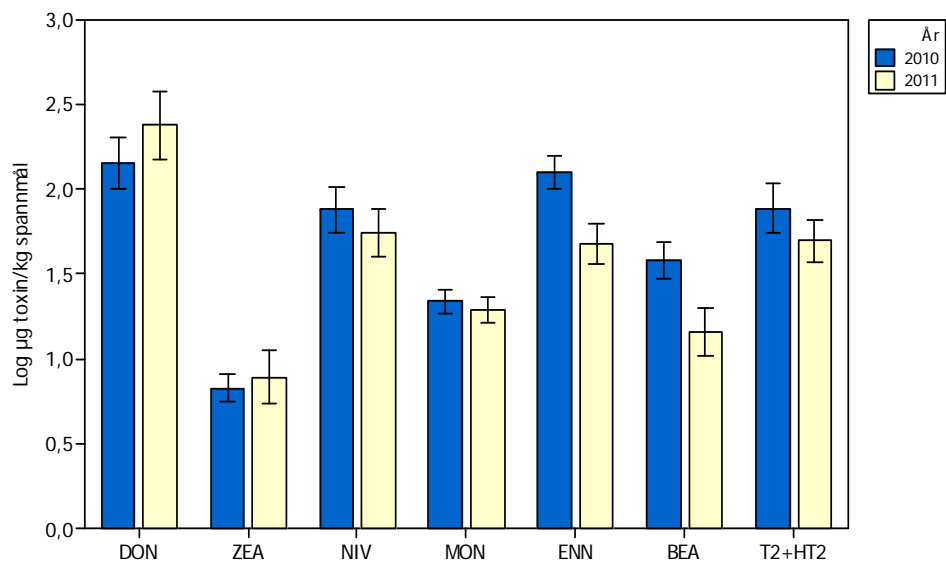
De högsta toxinhaltarna detekterades av DON och i fem (5 procent) av de 93 proven överskreds det gällande EU-gränsvärdet på 1 750 µg DON per kg havre. Två av dessa var från 2010 (2 360 och 1 865 µg kg⁻¹) och tre från 2011 (2012, 2 770 och 5 544 µg kg⁻¹). I provet med högst uppmätt DON halt överskreds också det gällande EU-gränsvärdet för ZEA på 100 µg kg⁻¹ (2 297 µg kg⁻¹).

Överlag var skillnaderna mellan åren små eller måttliga, men de genomsnittliga halterna av DON var signifikant (GLM, $P < 0,05$) högre 2011 än 2010, medan halterna av T-2 och HT-2-toxiner, NIV, ENN och BEA var signifikant högre 2010 än 2011 (Figur 15).

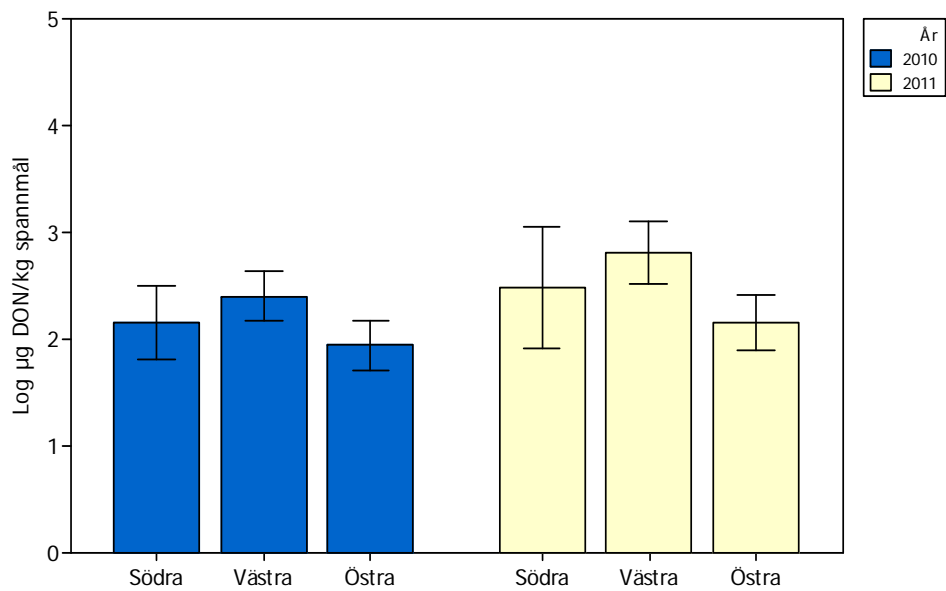
De genomsnittliga halterna av vissa mykotoxiner skiljde sig signifikant åt mellan regioner (GLM, $P < 0,05$). Halterna av DON (Figur 13) och ZEA var signifikant högre i prover från väst än från öst, och prover från öst och väst innehöll mer NIV än prov från södra Sverige. MON-halterna var däremot högre i södra Sverige än i övriga regioner.



Figur 11. Andel positiva prov av olika mykotoxiner arter i havre 2010 (n = 50) och 2011 (n = 43).



Figur 12. Genomsnittliga halter av mykotoxiner i havre 2010 (n = 50) och 2011 (n = 43). Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.



Figur 13. Genomsnittliga halter av DON i havre i södra (n = 20), västra (n = 28) och östra (n = 45) Sverige. Felstaplar indikerar 95 procent konfidens-intervall.

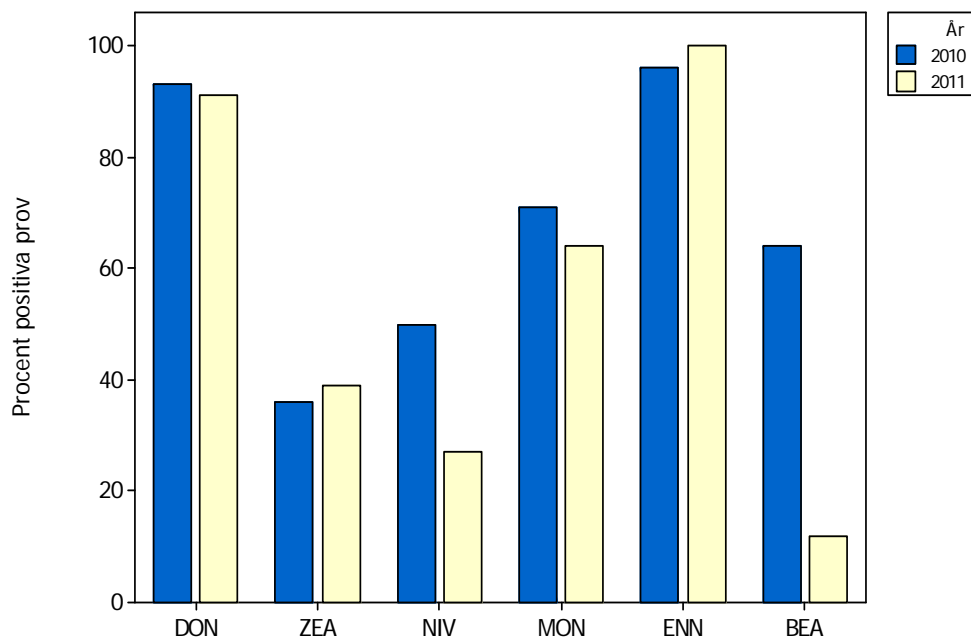
Vårvete

De vanligaste fusariumtoxiner var DON och ENN som påvisades i mer än 90 procent av proverna. MON påvisades i mer än hälften av proverna, medan ZEA och NIV var mindre vanliga. Förekomsten av BEA varierade i hög grad mellan åren, med en hög förekomst 2010 och en låg förekomst 2011 (Figur 14). T-2 eller HT-2 detekterades endast i enstaka prover.

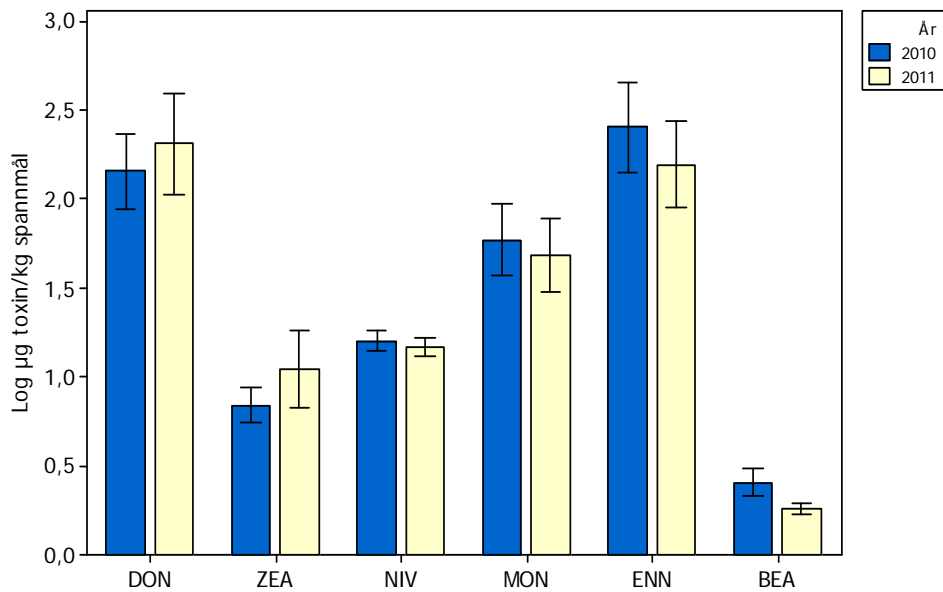
De högsta toxinhaltarna detekterades av DON och i tre (5 %) av de 61 proven överskreds det gällande EU-gränsvärdet på 1 250 µg DON per kg vete. Dessa var från 2011 och innehöll 4 142, 4 268 respektive 6 460 µg kg⁻¹.

Skillnaderna mellan åren var små, men de genomsnittliga halterna av DON och ZEA var signifikant (GLM, P <0,05) högre 2011 än 2010, medan halterna av BEA var signifikant högre 2010 än 2011 (Figur 15).

De genomsnittliga halterna av vissa mykotoxiner skiljde sig signifikant mellan regioner (GLM, P <0,05). Halter av DON var signifikant högre i prover från väst än från andra regioner (Figur 16) och halter av ENN var högre i väst än i öst.

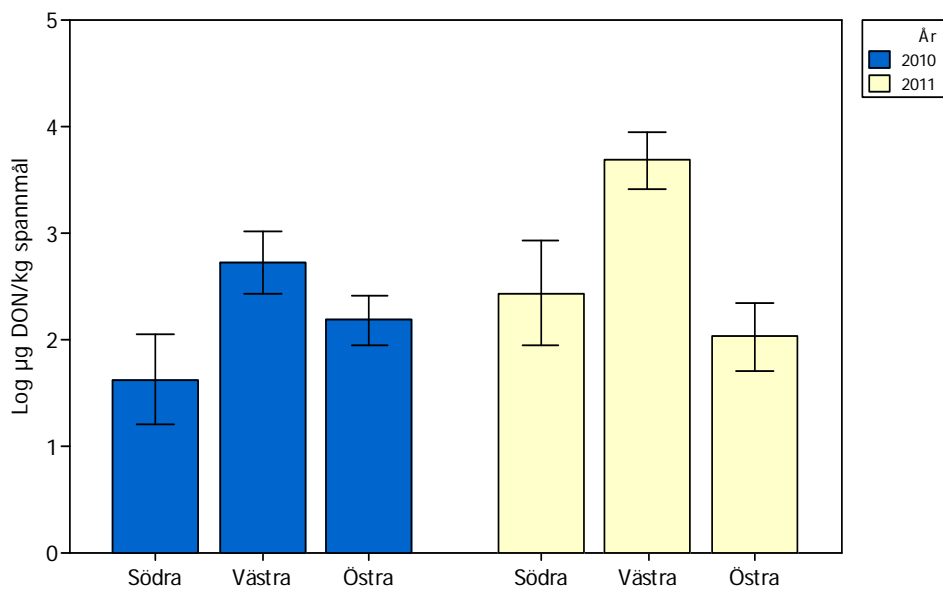


Figur 14. Andel positiva prov av olika mykotoxiner arter i vårvete 2010 (n = 28) och 2011 (n = 33).



Figur 15.

Genomsnittliga halter av mykotoxiner i vårvete 2010 (n = 28) och 2011 (n = 33). Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.



Figur 16.

Genomsnittliga halter av DON i vårvete i södra (n = 18), västra (n = 9) och östra (n = 34) Sverige. Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.

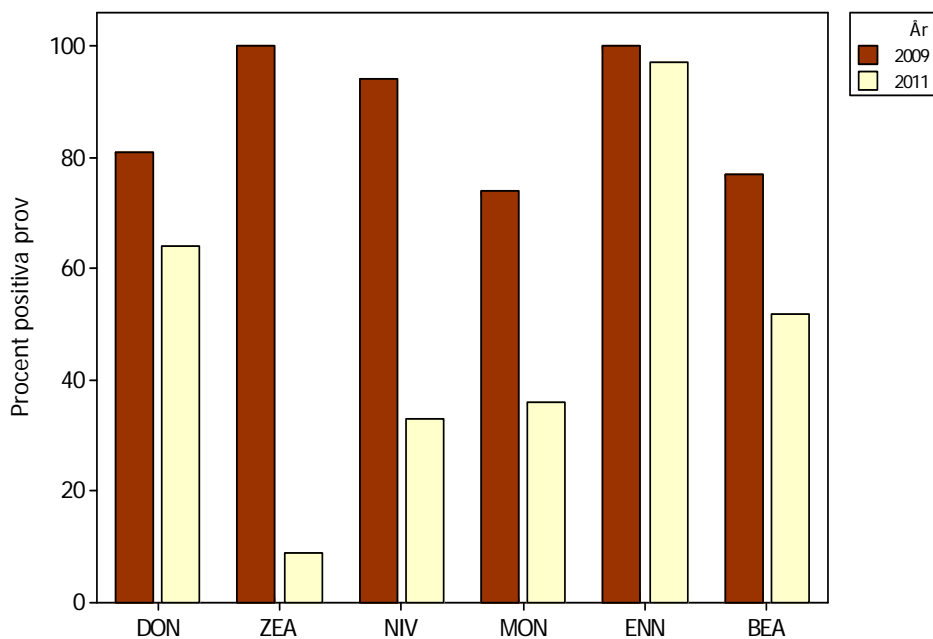
Höstvete

Det vanligaste fusariumtoxinet var ENN, som påvisades i mer än 90 procent av proverna. DON och BEA var också relativt vanliga, särskilt 2009, och påvisades i mer än hälften av proverna båda åren. Förekomsten av de övriga fusariumtoxinerna, ZEA, NIV och MON, varierade mer mellan åren men förekom generellt mindre 2011 (Figur 17).

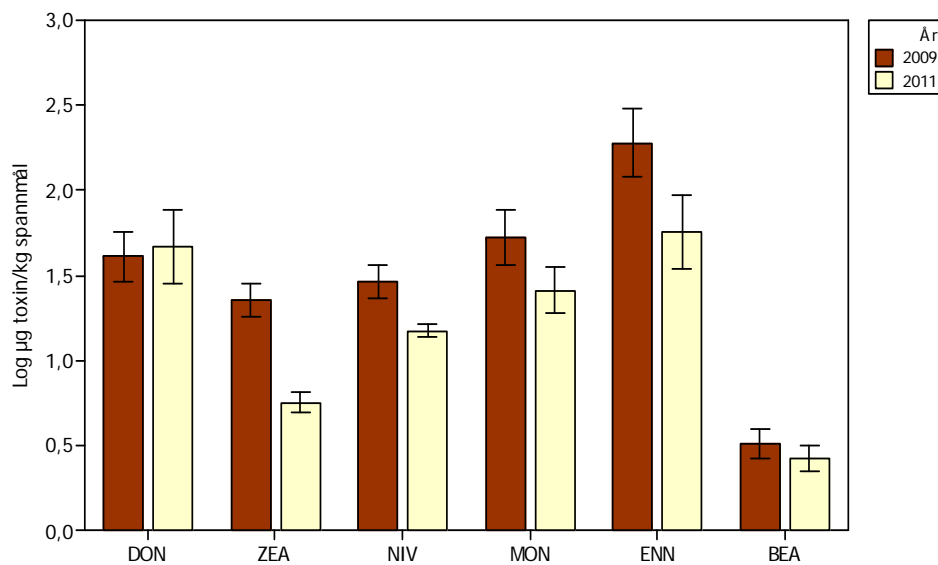
De högsta toxinhaltarna detekterades av DON och i ett (2 %) av de 64 proven överskreds det gällande EU-gränsvärdet på 1 250 µg DON kg spannmål⁻¹. Detta var från 2011 och innehöll 1 394 µg kg⁻¹.

De genomsnittliga halterna av DON var signifikant (GLM, $P < 0,05$) högre 2011 än 2009, medan halterna av NIV, MON, ENN och ZEA var signifikant högre 2009 än 2011 (Figur 18).

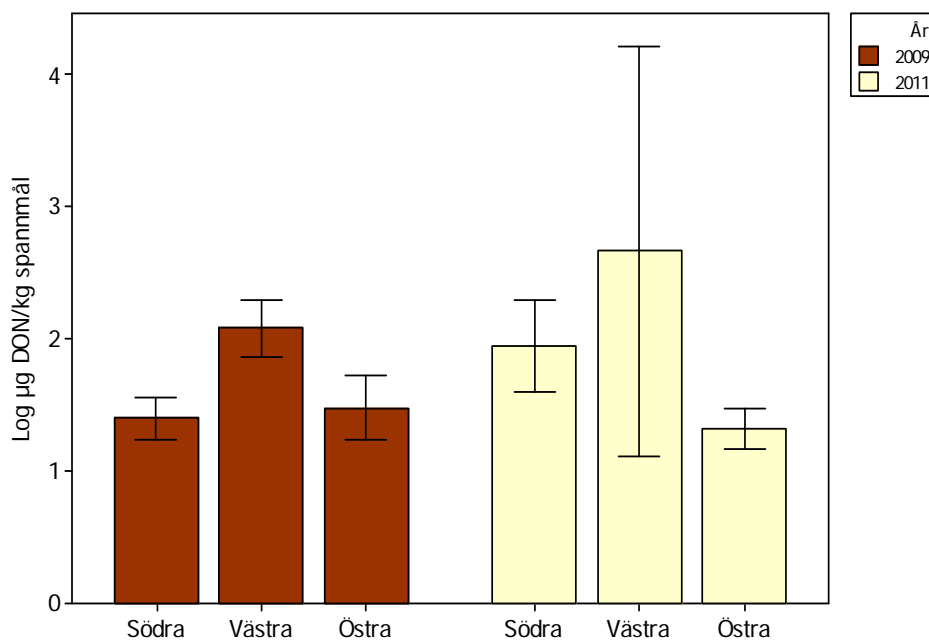
De genomsnittliga halterna av vissa mykotoxiner skiljde sig signifikant mellan regioner (GLM, $P < 0,05$). Halter av DON var signifikant högre i prover från väst än från andra regioner (Figur 19) och halter av ENN var högre i väst än i öst.



Figur 17. Andel positiva prov av olika mykotoxiner arter i höstvete 2009 (n = 31) och 2011 (n = 33).



Figur 18. Genomsnittliga halter av mykotoxiner i höstvet 2009 (n = 31) och 2011 (n = 33). Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.



Figur 19. Genomsnittliga halter av DON i höstvet i södra (n = 23), västra (n = 11) och östra (n = 30) Sverige. Felstaplar indikerar 95 procent konfidensintervall.

Samband mellan halter av svampar och av toxiner

Havre

Analyser av sambandet mellan halter av mykotoxiner och av fusarium-DNA visar att det fanns signifikanta samband ($P < 0,001$) mellan flera mykotoxiner och fusariumarter. De starkaste sambanden, där förklaringsgraden (R^2) var större än 0,5, påvisades mellan halter av DON och av *F. graminearum* ($R^2 = 0,60$; Figur 20), summan av halter av T-2 och HT-2-toxin och av *F. langsethiae* ($R^2 = 0,59$; Figur 21) samt BEA och *F. poae* ($R^2 = 0,61$). För halter av ENN påvisades starkast samband med halter av *F. tricinctum*, men det fanns även ett visst samband med halter av *F. avenaceum* ($R^2 = 0,57$ respektive 0,47; Figur 22).

Det fanns flera signifikanta ($P < 0,001$) samband mellan halter DNA av olika fusariumsvampar men förklaringsgraden var ofta låg. Det var bara för sambandet mellan halter av *F. avenaceum* och *F. tricinctum* ($R^2 = 0,53$) som förklaringsgraden var större än 0,5. På motsvarande sätt fanns det flera signifikanta ($P < 0,001$) samband halter av olika toxiner, men det var bara för sambandet mellan halter av T-2 och HT-2-toxin ($R^2 = 0,83$) som förklaringsgraden var större än 0,5.

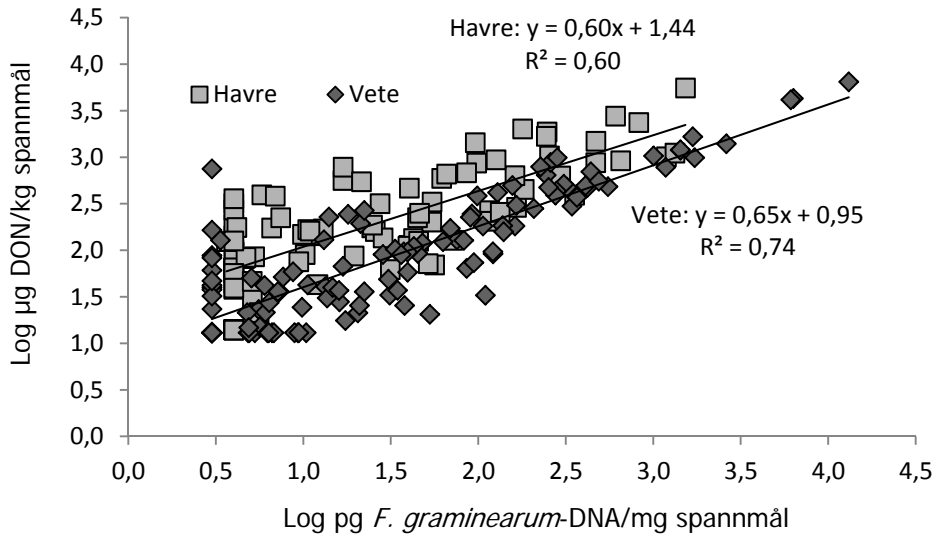
Vete

Det fanns signifikanta samband ($P < 0,001$) mellan flera mykotoxiner och fusariumarter. De starkaste sambanden påvisades mellan halter av DON och av *F. graminearum* ($R^2 = 0,74$; Figur 20) och mellan halter av MON och ENN och av *F. avenaceum* ($R^2 = 0,62$ respektive 0,67; Figur 22). Det fanns även ett visst samband mellan halter av BEA och av *F. poae* och mellan NIV och *F. tricinctum* ($R^2 = 0,48$ respektive 0,42). Sambanden mellan ZEA och DNA av *Fusarium* var överlag låga.

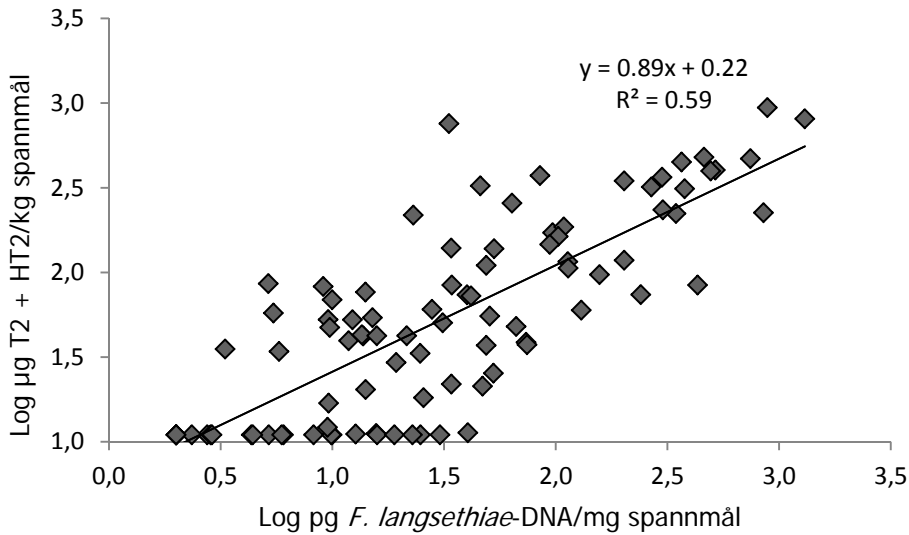
Liksom *F. graminearum* är *F. culmorum* en känd tillverkare av DON. Trots det var sambandet mellan halter av DON och av *F. culmorum* i det totala antalet prov svagt ($R^2 = 0,17$). Både 2009 och 2011 kunde det mesta av variationen i halter av DON förklaras av variationer i halter av *F. graminearum* ($R^2 = 0,73$ respektive 0,83). Men 2010, då halterna av *F. culmorum* var högre än under andra år, fanns ett starkare samband mellan halter av DON och av denna fusariumart. Om *F. culmorum* (och inte bara *F. graminearum*) inkluderades som förklarande faktorer i en multipel regressionsmodell för data från 2010 ökade förklaringsgraden från 0,49 till 0,72.

Även för de arter som producerar ENN skiljde sig sambandet mellan halter av toxinet och av halter av DNA åt mellan åren. Det mesta av variationen i halter av ENN 2010 och 2011 kunde förklaras av variationen i halter av *F. avenaceum* ($R^2 = 0,88$ respektive 0,62) och endast i liten grad av halter av *F. tricinctum*, vilken också är en känd producent av ENN. Men 2009, då halterna av *F. tricinctum* var högre än under andra år, var sambandet mellan halter av ENN och av *F. tricinctum* ($R^2 = 0,84$) starkare än det mellan ENN och *F. avenaceum* ($R^2 = 0,58$).

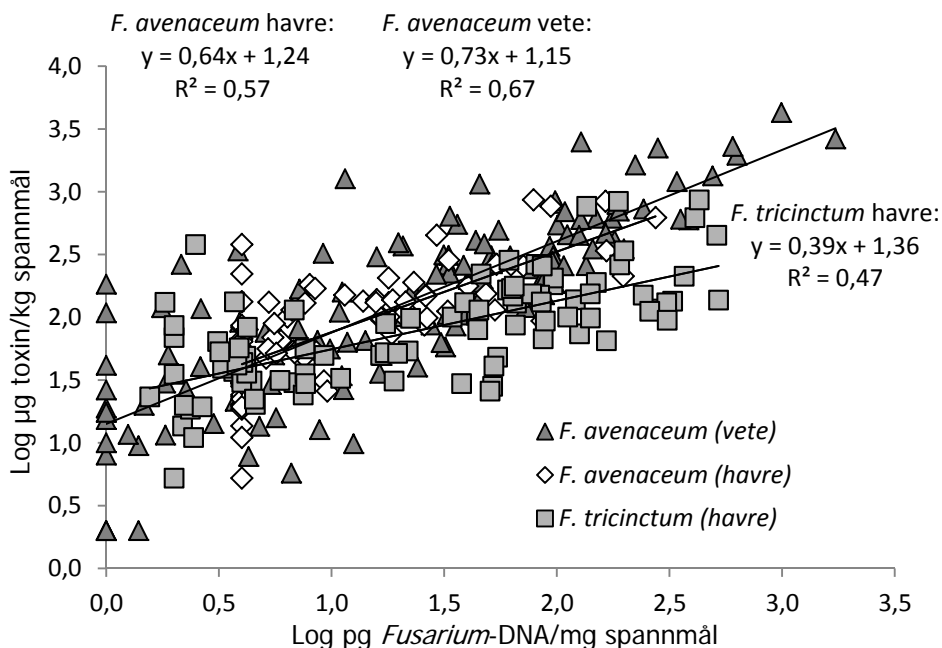
Det fanns flera signifikanta ($P < 0,001$) samband mellan DNA koncentrationen för olika fusariumsvampar men förklaringsgraden var i samtliga fall lägre än 0,5. Det fanns även flera signifikanta ($P < 0,001$) samband mellan halter av olika toxiner, men det var bara för sambandet mellan ENN och MON ($R^2 = 0,74$) som förklaringsgraden var större än 0,5.



Figur 20. Samband mellan halter av DON och halter av DNA från *F. graminearum* i havreprover från 2010 och 2011 (n = 93) och i vetepröver från 2009, 2010 och 2011 (n=125).



Figur 21. Samband mellan summan av halter av T-2 och HT-2-toxiner och halter av DNA från *F. langsethiae* i havreprover från 2010 och 2011 (n = 93).



Figur 22. Samband mellan halter av ENN och halter av DNA från *F. avenaceum* och *F. tricinatum* i havreprover från 2010 och 2011 (n = 93) och *F. avenaceum* i veteprover från 2009, 2010 och 2011 (n=125).

Förekomst av 3ADON och 15ADON samt olika DON genotyper

Kemisk analys av spannmålsproven visade att DON-kemotypen 3-ADON detekterades i 47 procent av havreproverna (max 1006 µg kg⁻¹) men endast i enstaka prov av vårvete och höstvet. Kemotypen 15-ADON påvisades inte i något prov.

Analys av förekomsten av genotypen 3ADON, det vill säga den specifika nukleinsyrasekvensen som krävs för att svampen ska kunna bilda 3ADON, i havre och veteprover från 2010 och 2011 visade att genotypen 3ADON fanns i drygt 90 procent av havreproven och 70 procent av veteproven. Några prov var även positiva för genotypen 15ADON eller NIV men halten DNA från dessa genotyper utgjorde i de flesta fall mindre än 1 procent av halten DNA från 3ADON. I endast två respektive fem veteprover var halten 15ADON, respektive NIV, mer än 1 procent av halten 3ADON. I de prov som var positiva för genotypen 3ADON fanns statistiska samband ($P < 0,001$) med den totala halten DNA från *F. graminearum* ($R^2 = 0,76$) och med halten DON ($R^2 = 0,58$). Sambandet blev svagare då summan av DON och det acetylerade derivatet av DON, 3ADON, inkluderades i analysen ($R^2 = 0,30$).

Diskussion

Sammantaget visar resultaten att flera olika fusariumarter och toxiner förekom i havre och vete. Till exempel påvisades fyra arter eller fler i de flesta prov vilket innebär att spannmål från ett och samma fält kan innehålla ett flertal olika fusariumtoxiner. *F. poae* och *F. avenaceum* fanns i nästan alla prov oavsett spannmålsslag och år och vissa toxiner, exempelvis DON som har EU-gränsvärden i spannmål och ENNer som saknar gränsvärden, var också vanliga. För vissa fusariumarter påverkades tillväxten och toxinbildningen av spannmålsslag, provtagningsår och provtagningsplats.

Årlig variation

De genomsnittliga halterna av de flesta fusariumtoxiner och fusariumsvampar var lägst 2011. Det tydligaste undantaget var de genomsnittliga halterna av DON och dess främsta producent *F. graminearum* som i samtliga tre spannmålsslag var högre eller lika höga 2011 jämfört med 2010 (havre och vårvete) och 2009 (höstvete). Det tyder på att förhållanden som gynnar tillväxt av *F. graminearum* skiljer sig från de som gynnar andra fusariumsvampar. Liknande resultat har framkommit i andra studier (13, 35).

Geografisk variation

De genomsnittliga halterna av DON och *F. graminearum* var högre i västra Sverige än i andra regioner i både vete och havre. Detta överensstämmer med branschens egen provtagning och analys av DON under samma period. Data från Lantmännen visar till exempel att cirka 35 procent av den levererade havren från Västsverige 2011 innehöll för höga halter DON för att kunna användas som livsmedel (muntligt från Thomas Börjesson, Lantmännen Lantbruk). Orsaken till de högre nivåerna av DON och *F. graminearum* i västra Sverige är inte känd. Även i Norge finns det stora regionala skillnader och de högsta halterna av DON förekommer i ett område nära gränsen till västra Sverige. Generellt är västra Sverige ett av de mest nederbördsrika områdena i Sverige, vilket skulle kunna gynna tillväxt av fusariumsvampar och bildning av toxin. Det har dock inte gått att påvisa något samband mellan vare sig klimatfaktorer eller agronomiska faktorer (till exempel jordart eller jordbearbetning) och regional variationen av halter av DON i havre i Sverige, Norge och Finland (11).

För övriga fusariumsvampar och toxiner var den geografiska spridningen inte konstant mellan olika spannmålsslag och år. Även det geografiska sambandet mellan toxin och fusariumart saknades för övriga toxiner.

Viktigaste toxinbildande arterna

DON, ZEA, *F. graminearum* och *F. culmorum*

Under 90-talet var *F. culmorum* den huvudsakliga producenten av DON i Norra Europa (12, 36, 37). Övergången från *F. culmorum* till förmån för *F. graminearum* har demonstrerats i en dansk studie där DNA koncentrationen i historiska prover från 1957 till 2000 jämfördes med halter i senare prov från 2003 till 2007 (38). Även norska studier har visat på detta skifte (13) (35).

Resultaten från kartläggningen konfirmerade detta även i svenska prov, det vill säga att *F. graminearum* förekommer i fler prov och i högre halter än *F. culmorum* i både vete och havre. De högst halterna av *F. culmorum* uppmättes i vårvete 2010 och sambandanalyser mellan svamp och toxin visade att både *F. graminearum* och *F. culmorum* bidrog till toxinproduktionen detta år. Det tyder på att *F. culmorum* vissa år och i vissa grödor kan bidra väsentligt till produktionen av DON även om *F. graminearum* är den främsta producenten. Yli-Mattila et al. (39) rapporterade liknande resultat för perioden 2005-2006 i Finland, då *F. culmorum* bidrog till DON produktion i korn, men inte var inblandad i produktion av DON i vårvete och havre. *F. culmorum* anses vara gynnad av kallare väder än *F. graminearum* (40), men detta kan inte förklara de aktuella resultaten eftersom de högsta halterna DNA av *F. culmorum* i både havre och vårvete uppmättes det varmaste året under kartläggningen (2010).

ZEA, som också kan bildas av *F. graminearum* och *F. culmorum*, fanns i alla prover av höstvete från 2009 men förekom endast i mindre utsträckning andra år. Det fanns inget starkt samband mellan halter av ZEA och av någon fusariumart, och inte heller mellan halter av ZEA och av DON. Tidigare studier har också visat att ZEA och DON inte alltid bildas i samma prov (5, 41-44), vilket tyder på att bildning av de två toxinerna gynnas av olika förhållanden.

Spridning av olika genotyper

Stammar av *F. graminearum* och *F. culmorum* kan utöver DON bilda någon av de två acetylerade formerna av DON (3ADON eller 15ADON) eller NIV. Kartlägningsstudien visade att stammar som bildar DON och 3ADON dominerade i havre och vete under 2010 och 2011. Detta överensstämde med de kemiska analyserna som påvisade ämnet 3ADON, och inte 15ADON, i proven. Sammantaget bekräftar detta resultat från andra studier som visat att stammar som har förmåga att bilda 3ADON är den dominerande varianten av DON producerande art i norra Europa (16, 17). Resultaten visar dock att den huvudsakliga produkten är DON och att bildningen av den acetylerade formen 3ADON styrs av andra faktorer. Exempelvis förekom den acetylerade formen oftare och i högre halter i havre vilket också visats tidigare (33, 45).

ENNer, MON, *F. avenaceum* och *F. tricinctum*

Både *F. avenaceum* och *F. tricinctum* kan bilda MON och ENN (5-7, 13, 16, 46) men resultaten från denna studie visade att sambandet mellan dessa toxiner och svamparna var starkast för *F. avenaceum* vilket tyder på att denna art var viktigast för förekomsten av dessa toxiner i spannmålsproven. Studier från Finland och Norge har också visat att *F. avenaceum* är viktigast för bildningen av MON och

ENN (35, 47). Precis som för *F. culmorum* och DON, visade analysresultaten att *F. tricinctum* vissa år kan bidra väsentligt till produktionen av ENN (höstvet 2009).

***F. poae*, NIV och BEA**

F. poae och några andra fusariumarter kan bilda BEA (5, 36, 47-50). Resultaten pekar på att *F. poae* var viktigast för bildningen av detta toxin i havre och vete under denna period eftersom sambandet mellan BEA och *F. poae* var starkare än med någon annan fusariumart. *F. poae* kan även bilda NIV, men sambanden mellan halter av detta toxin och av *F. poae* och var överlag svaga. I vete var sambandet starkare med en annan fusariumart, *F. tricinctum*.

***F. langsethiae*, T-2 och HT-2**

F. langsethiae hörde till de vanligaste fusariumarterna i havre och dess starka samband med T-2 och HT-2 toxiner bekräftar att *F. langsethiae*, och inte *F. sporotrichoides*, är mest betydelsefull för bildning av dessa toxiner i havre från norra Europa (51-53).

Behov av mer kunskap och övervakning

Variationen mellan år pekar på att *F. graminearum*, den art som är viktigast för bildning av DON i Sverige, gynnas av andra tillväxtfaktorer än övriga fusariumarter. I dagsläget saknas tillräcklig kunskap om de faktorer som styr tillväxt och toxinbildning vilket gör det omöjligt att förutsäga toxinförekomst vid skörd med utgångspunkt i till exempel temperatur och nederbörd under odlingssäsongen. Ytterligare studier behövs även för att förklara den högre förekomsten av *F. graminearum* i västra Sverige jämfört med andra regioner.

Endast ett fåtal prov innehöll toxinhalter som överskred gällande EU-gränsvärden vilket tyder att risken för svenska konsumenter att äta spannmålsbaserad mat med en förhöjd halt mykotoxiner är liten. Resultaten visar dock att ett flertal olika toxinbildande svampar och toxiner förekommer i spannmål som odlas i Sverige.

Denna kartläggningsstudie visar på en generell ökning när det gäller koncentrationen av DON i svenskodlad spannmål. Spannmålsbranschens egna mätningar visar att en stor del spannmål måste kasseras varje år till följd av att innehållet av DON överskrider EU:s gränsvärde. Med anledning av detta samt risken för ytterligare högre halter till följd av kommande klimatförändringar, bör utbredningen av toxinbildande mögelsvampar och dess toxiner regelbundet övervakas i svenskodlad spannmål. Med en regelbunden övervakning kan både spannmålsbranschen och kontrollmyndigheter rikta provtagning och analys till områden med störst problem för att undvika att djur och människor i framtiden blir sjuka på grund av höga halter mykotoxiner. Resultaten från denna kartläggning kan användas som baslinje för framtida monitoreringsstudier.

Referenser

1. Nationella branschriktlinjer för att undvika fusariumtoxiner i spannmål. 2012.
2. Official Statistics of Sweden. Yearbook of agricultural statistics including food statistics. Örebro: Jordbruksverket 2012 Contract No.: ISSN 1654-4382 (Online), http://www.jordbruksverket.se/download/18.50fac94e137b680908480004081/JS%C3%85+2012+Hela_1.pdf (senast åtkomst 2013-01-11).
3. van der Fels-Klerx H, Stratakou I. T-2 and HT-2 toxin in grain-based commodities in Europe: occurrence, factors affecting occurrence, co-occurrence and toxicological effects. *World Mycotoxin Journal*. 2010;3:349-367.
4. Miller JD. Mycotoxins in small grains and maize: old problems, new challenges. *Food Additives and Contaminants*. 2008;25(2):219-30.
5. Jestoi M. Emerging *Fusarium*-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2008 Jan;48(1):21-49.
6. Jestoi M, Rokka M, Yli-Mattila T, Parikka P, Rizzo A, Peltonen K. Presence and concentrations of the *Fusarium*-related mycotoxins beauvericin, enniatins and moniliformin in Finnish grain samples. *Food Additives and Contaminants*. 2004 Aug;21(8):794-802.
7. Uhlig S, Jestoi M, Parikka P. *Fusarium avenaceum* - the North European situation. *International Journal of Food Microbiology*. 2007 Oct 20;119(1-2):17-24.
8. Franz E, Booij K, van der Fels-Klerx I. Prediction of deoxynivalenol content in Dutch winter wheat. *Journal of Food Protection*. 2009 Oct;72(10):2170-2177.
9. Schaafsma A, Hooker D. Climatic models to predict occurrence of *Fusarium* toxins in wheat and maize. *International Journal of Food Microbiology*. 2007 Oct 20;119(1-2):116-125.
10. van der Fels-Klerx H, Burgers S, Booij C. Descriptive modelling to predict deoxynivalenol in winter wheat in the Netherlands. *Food Additives and Contaminants*. 2010 May;27(5):636-643.
11. Lindblad M, Börjesson T, Hietaniemi V, Elen O. Statistical analysis of agronomical factors and weather conditions influencing deoxynivalenol levels in oats in Scandinavia. *Food Additives and Contaminants*. 2012 Dec 9;29(10):1566-1571.
12. Jennings P, Coates ME, Walsh K, Turner JA, P. N. Determination of deoxynivalenol- and nivalenol-producing chemotypes of *Fusarium graminearum* isolates from wheat crops in England and Wales. *Plant Pathology*. 2004;53:643-652.
13. Kosiak B, Torp M, Skjerve E, Thrane U. The prevalence and distribution of *Fusarium* species in Norwegian cereals: a survey. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil and Plant Science*. 2003;53(4):168-176.
14. Mugrabi de Kuppler AL, Steiner U, Sulyok M, Krska R, Oerke E-C. Genotyping and phenotyping of *Fusarium graminearum* isolates from Germany related to their mycotoxin biosynthesis. *International Journal of Food Microbiology*. 2011 Nov 15;151(1):78-86.

15. Stepien L, Popiel D, Koczyk G, Chelkowski J. Wheat-infecting *Fusarium* species in Poland-their chemotypes and frequencies revealed by PCR assay. *Journal of Applied Genetics*. 2008;49(4):433-441.
16. Langseth W, Bernhoft A, Rundberget T, Kosiak B, Gareis M. Mycotoxin production and cytotoxicity of *Fusarium* strains isolated from Norwegian cereals. *Mycopathologia*. 1999;144(2):103-113.
17. Yli-Mattila T. Ecology and evolution of toxigenic *Fusarium* species in cereals in Northern Europe and Asia. *Journal of Plant Pathology*. 2010;92(1):7-18.
18. Suga H, Karugia GW, Ward T, Gale LR, Tomimura K, Nakajima T, et al. Molecular characterization of the *Fusarium graminearum* species complex in Japan. *Phytopathology*. 2008 Feb;98(2):159-166.
19. Yoshizawa T, Jin YZ. Natural occurrence of acetylated derivatives of deoxynivalenol and nivalenol in wheat and barley in Japan. *Food Additives and Contaminants*. 1995 Sep-Oct;12(5):689-694.
20. Statens offentliga utredningar. Klimat- och sårbarhetsutredningen 2007 Contract No.: <http://www.sweden.gov.se/sb/d/8704/a/89334> (senast åtkomst 2012-10-10).
21. Puri KD, Zhong S. The 3ADON population of *Fusarium graminearum* found in North Dakota is more aggressive and produces a higher level of DON than the prevalent 15ADON population in spring wheat. *Phytopathology*. 2010 Oct;100(10):1007-1014.
22. Ward TJ, Clear RM, Rooney AP, O'Donnell K, Gaba D, Patrick S, et al. An adaptive evolutionary shift in *Fusarium* head blight pathogen populations is driving the rapid spread of more toxigenic *Fusarium graminearum* in North America. *Fungal Genetics and Biology*. 2008 Apr;45(4):473-484.
23. Battilani P, Costa LG, Dossena A, M. G, R. M, Galaverna G, et al. Scientific information on mycotoxins and natural plant toxicants. Scientific/technical report submitted to EFSA. CFP/EFSA/CONTAM/2008/01. 2009. 1-467.
24. Anonamous. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *EFSA Journal* 2011;9(12):2481.
25. Desmarchelier A, Oberson JM, Tella P, Gremaud E, Seefelder W, Mottier P. Development and comparison of two multiresidue methods for the analysis of 17 mycotoxins in cereals by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2010 Jul 14;58(13):75107519.
26. Kokkonen M, Jestoi M. A multi-compound LC-MS/MS method for the screening of mycotoxins in grains. *Food Analytical Methods*. 2009;2(2):128-140.
27. Anonamous. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed *EFSA Journal*. 2011;9(12):2481-2668.
28. Livsmedelsverket, Jordbruksverket. Riskklassificering av livsmedelsföretag och foderföretag inom primärproduktionen - en vägledning. 2010.
29. Livsmedelsverket. Riskklassning av livsmedelsanläggningar och beräkning av kontrolltid - en vägledning. 2011.
30. Lindblad M, Gidlund A, Sulyok M, Börjesson T, Krska R, Olsen M, et al. Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish wheat-occurrence and correlation to

- specific *Fusarium* species. International Journal of Food Microbiology. 2013;167(2):284-291.
31. Fredlund E, Gidlund A, Sulyok M, Borjesson T, Krska R, Olsen M, et al. Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish oats-occurrence and correlation to specific *Fusarium* species. International Journal of Food Microbiology. 2013;167(2):276-283.
 32. Thrane U. Comparison of three selective media for detecting *Fusarium* species in foods: a collaborative study. International Journal of Food Microbiology. 1996 Apr;29(2-3):149-156.
 33. Nielsen L, Jensen J, Rodríguez A, Jorgensen L, Justesen A. TRI12 based quantitative real-time PCR assays reveal the distribution of trichothecene genotypes of *F. graminearum* and *F. culmorum* isolates in Danish small grain cereals. International Journal of Food Microbiology. 2012 Jul 16;157(3):384-392.
 34. Vishwanath V, Sulyok M, Labuda R, Bicker W, Krska R. Simultaneous determination of 186 fungal and bacterial metabolites in indoor matrices by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2009 Nov;395(5):1355-1372.
 35. Bernhoft A, Clasen PE, Kristoffersen AB, Torp M. Less *Fusarium* infestation and mycotoxin contamination in organic than in conventional cereals. Food Additives and Contaminants. 2010 Jun;27(6):842-852.
 36. Bottalico A, Perrone G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. European Journal of Plant Pathology. 2002;108:611-624.
 37. Waalwijk C, Katselein P, de Vries I, Kerényi Z, van der Lee T, Hesselink T, et al. Major changes in *Fusarium* spp. in wheat in the Netherlands. European Journal of Plant Pathology. 2003 06;109:743-754.
 38. Nielsen LK, Jensen JD, Nielsen GC, Jensen JE, Spliid NH, Thomsen IK, et al. *Fusarium* head blight of cereals in Denmark: species complex and related mycotoxins. Phytopathology. 2011 Aug;101(8):960-969.
 39. Yli-Mattila T, Parrikka P, Lahtinen T, Rämö S, Kokkonen M, Rizzo A, et al. *Fusarium* DNA levels in Finnish cereal grains. In: Gherbawy Y, Mach RL, Rai M, editors. Current Advances in Molecular Mycology. New York, USA: Nova Science Publishers Inc; 2008. p. 107-138.
 40. Miller J. Epidemiology of *Fusarium graminearum* diseases of wheat and corn. In: Miller J, Trenholm H, editors. Mycotoxins in grain: compounds other than aflatoxin. St Paul, MN, USA: Egan Press; 1994. p. 19-36.
 41. Edwards SG. *Fusarium* mycotoxin content of UK organic and conventional wheat. Food Additives and Contaminants. 2009 Apr;26(4):496-506.
 42. Eskola M, Parikka P, Rizzo A. Trichothecenes, ochratoxin A and zearalenone contamination and *Fusarium* infection in Finnish cereal samples in 1998. Food Additives and Contaminants. 2001 Aug;18(8):707-718.
 43. Jestoi M, Somma MC, Kouva M, Veijalainen P, Rizzo A, Ritieni A, et al. Levels of mycotoxins and sample cytotoxicity of selected organic and conventional grain-based products purchased from Finnish and Italian markets. Molecular Nutrition and Food Research. 2004 Sep;48(4):299-307.

44. Yli-Mattila T, Paavanen-Huhtala S, Jestoi M, Parikka P, Hietaniemi V, Gagkaeva T, et al. Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* in cereal grains in Finland and Russia. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 2008;41:243-260.
45. Schollenberger M, Muller H, Rufle M, Suchy S, Plank S, Drochner W. Natural occurrence of 16 fusarium toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. Mycopathologia. 2006 Jan;161(1):43-52.
46. Langseth W, Rundberget T. The occurrence of HT-2 toxin and other trichothecenes in Norwegian cereals. Mycopathologia. 1999;147(3):157-165.
47. Uhlig S, Torp M, Jarp J, Parich A, Gutleb AC, Krska R. Moniliformin in Norwegian grain. Food Additives and Contaminants. 2004 Jun;21(6):598-606.
48. Kokkonen M, Ojala L, Parikka P, Jestoi M. Mycotoxin production of selected *Fusarium* species at different culture conditions. International Journal of Food Microbiology. 2010 Sep 30;143(1-2):17-25.
49. Somma S, Alvarez C, Ricci V, Ferracane L, Ritieni A, Logrieco A, et al. Trichothecene and beauvericin mycotoxin production and genetic variability in *Fusarium poae* isolated from wheat kernels from northern Italy. Food Additives and Contaminants. 2010 May;27(5):729-737.
50. Thrane U, Adler A, Clasen PE, Galvano F, Langseth W, Lew H, et al. Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides*. International Journal of Food Microbiology. 2004 Sep 15;95(3):257-266.
51. Bernhoft A, Torp M, Clasen PE, Loes AK, Kristoffersen AB. Influence of agronomic and climatic factors on *Fusarium* infestation and mycotoxin contamination of cereals in Norway. Food Additives and Contaminants. 2012 Mar 26;29(7):1129-1140.
52. Edwards S, Imathiu S, Ray R, Back M, Hare M. Molecular studies to identify the *Fusarium* species responsible for HT-2 and T-2 mycotoxins in UK oats. International Journal of Food Microbiology. 2012 May 15;156(2):168-175.
53. Fredlund E, Gidlund A, Pettersson H, Olsen M, Börjesson T. Real-time PCR detection of *Fusarium* species in Swedish oats and correlation to T-2 and HT-2 toxin content. World Mycotoxin Journal. 2010;3(1):77-88.
54. Hartman E, Börjesson T. Lägesrapport 4 (130828) beträffande förekomst av DON och andra mykotoxiner i 2013 års spannmålsskörd i Sverige. 2013.

1. Contaminants and minerals in foods for infants and young children – analytical results, Part 1, by V Öhrvik, J Engman, B Kollander and B Sundström.
Contaminants and minerals in foods for infants and young children – risk and benefit assessment, Part 2 by G Concha, H Eneroth, H Hallström and S Sand.
Tungmetaller och mineraler i livsmedel för spädbarn och småbarn. Del 3 Risk- och nyttohantering av R Bjerselius, E Halldin Ankarberg, A Jansson, I Lindeberg, J Sanner Färnstrand och C Wanhainen.
Contaminants and minerals in foods for infants and young children – risk and benefit management, Part 3 by R Bjerselius, E Halldin Ankarberg, A Jansson, I Lindeberg, J Sanner Färnstrand and C Wanhainen.
2. Bedömning och dokumentation av näringsriktiga skolluncher – hanteringsrapport av A-K Quetel.
3. Gluten i maltdrycker av Y Sjögren och M Hallgren.
4. Kontroll av bekämpningsmedelsrester i livsmedel 2010 av A Wannberg, A Jansson och B-G Ericsson.
5. Kompetensprovning: Mikrobiologi – Livsmedel, Januari 2013 av L Nachin, C Normark och I Boriak.
6. Från jord till bord – risk- och sårbarhetsanalys. Rapport från nationellt seminarium i Stockholm november 2012.
7. Cryptosporidium i dricksvatten – riskvärdering av R Lindqvist, M Egervärn och T Lindberg.
8. Kompetensprovning: Mikrobiologi – Livsmedel, April 2013 av L Nachin, C Normark, I Boriak och I Tillander.
9. Kompetensprovning: Mikrobiologi – Dricksvatten, 2013:1, mars av T Šlapokas och K Mykkänen.
10. Grönsaker och rotfrukter – analys av näringsämnen av M Pearson, J Engman, B Rundberg, A von Malmborg, S Wretling och V Öhrvik.
11. Riskvärdering av perfluorerade alkylsyror i livsmedel och dricksvatten av A Glynn, T Cantilana och H Bjerme.
12. Kommuners och Livsmedelsverkets rapportering av livsmedelskontrollen 2012 av L Eskilsson.
13. Kontroll av rests substanser i levande djur och animaliska livsmedel. Resultat 2011 av I Nordlander, B Aspenström-Fagerlund, A Glynn, I Nilsson, A Törnkvist, A Johansson, T Cantillana, K Neil Persson Livsmedelsverket och K Girma, Jordbruksverket.
14. Norovirus i frysta hallon – riskhantering och vetenskapligt underlag av C Lantz, R Bjerselius, M Lindblad och M Simonsson.
15. Riksprojekt 2012 – Uppföljning av de svensk salmonellagarantierna vid införsel av kött från nöt, gris och fjäderfä samt hönsägg från andra EU-länder av A Brådenmark, Å Kjellgren och M Lindblad.
16. Trends in Cadmium and Certain Other Metal in Swedish Household Wheat and Rye Flours 1983-2009 by L Jorhem, B Sundström and J Engman.
17. Miljöpåverkan från animalieprodukter – kött, mjölk och ägg av M Wallman, M Berglund och C Cederberg, SIK.
18. Matlagningfettets och bordsfettets betydelse för kostens fettkvalitet och vitamin D-innehåll av A Svensson, E Warensjö Lemming, E Amcoff, C Nälsén och A K Lindroos.
19. Mikrobiologiska risker vid dricksvattendistribution – översikt av händelser, driftstörningar, problem och rutiner av M Säve-Söderbergh, A Malm, R Dryselius och J Toljander.
20. Mikrobiologiska dricksvattenrisker. Behovsanalys för svensk dricksvattenförsörjning – sammanställning av intervjuer och workshop av M Säve-Söderbergh, R Dryselius, M Simonsson och J Toljander.
21. Risk and Benefit Assessment of Herring and Salmonid Fish from the Baltic Sea Area by A Glynn, S Sand and W Becker.
22. Synen på bra matvanor och kostråd – en utvärdering av Livsmedelsverkets råd av H Enghardt Barbieri.
23. Revision av Sveriges livsmedelskontroll 2012 – resultat av länsstyrelsernas och Livsmedelsverkets revisioner av kontrollmyndighete av A Rydin, G Engström och Å Eneroth.
24. Kött – analys av näringsämnen: hjort, lamm, nötdjur, ren, rådjur, vildsvin och kalkon av V Öhrvik.
25. Akrylamid i svenska livsmedel – en riktad undersökning 2011 och 2012 av Av K-E Hellenäs, P Fohgelberg, U Fäger, L Busk, L Abramsson Zetterberg, C Ionescu, J Sanner Färnstrand.
26. Kompetensprovning: Mikrobiologi – Livsmedel, oktober 2013 av L Nachin, C Normark och I Boriak.
27. Kompetensprovning: Mikrobiologi – Dricksvatten, september 2013 av T Šlapokas och K Mykkänen.
28. Sammanställning av analysresultat 2008-2013. Halt av polycykliska aromatiska kolväten (PAH) i livsmedel – matfetter, spannmålsprodukter, kosttillskott, choklad, grillat kött och grönsaker av S Wretling, A Eriksson och L Abramsson Zetterberg.

1. Exponeringsuppskattningar av kemiska ämnen och mikrobiologiska agens – översikt samt rekommendationer om arbetsgång och strategi av S Sand, H Eneroth, B-G Ericsson och M Lindblad.
2. Fusariumsvampar och dess toxiner i svenskodlad vete och havre – rapport från kartlägningsstudie 2009-2011 av E Fredlund och M Lindblad.