

# *Fusarium* på korn skader planter, husdyr og mennesker

*Fusarium* er blandt de vigtigste sygdomsfremkaldende svampe i kornmarkerne. Angreb kan medføre et uacceptabelt højt indhold af mykotoksiner i foder og fødevarer. Regnfulde somre samt dyrkning af hvede efter især majs øger risikoen for alvorlige angreb af *Fusarium*. Både praktisk jordbrugsforskning, udvikling af mere resistente kornsorter og grundlæggende genetiske og biokemiske analyser er i spil for at begrænse de skader, som forårsages af *Fusarium*-angreb.

Af Lise Nistrup Jørgensen<sup>1</sup>, Ulf Thrane<sup>2</sup>, David B. Collinge<sup>3</sup>, Hans Jørgen Lyngs Jørgensen<sup>3</sup>, Jens Due Jensen<sup>3</sup>, Niels Henrik Spliid<sup>1</sup>, Ghita Cordsen Nielsen<sup>4</sup>, Peter Have Rasmussen<sup>5</sup>, Mogens Nicolaisen<sup>1</sup>, Annemarie F. Justesen<sup>1</sup>, Henriette Giese<sup>6,1</sup> og Inga C. Bach<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet, Forskningscenter Flakkebjerg, Aarhus Universitet, <sup>2</sup>Center for Mikrobiel Bioteknologi, Institut for Systembiologi, Danmarks Tekniske Universitet, <sup>3</sup>Institut for Plantebiologi, Det Biovidenskabelige Fakultet for Fødevarer, Veterinærmedicin og Naturressourcer, Københavns Universitet, <sup>4</sup>Dansk Landbrugsrådgivning, Landscentret, Planteproduktion <sup>5</sup>Fødevareinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, <sup>6</sup>Institut for Økologi, Det Biovidenskabelige Fakultet for Fødevarer, Veterinærmedicin og Naturressourcer, Københavns Universitet, <sup>7</sup>Planteforskning.dk

*Fusarium* er en stor svampeslægt, som forekommer naturligt overalt i verden. De fleste arter er harmløse saprofytter, som lever af dødt organisk materiale, men *Fusarium* omfatter også adskillige patogene arter, som kan gøre stor skade på andre levende organismer.

*Fusarium* kan angribe både en- og tokimbladede plantearter. Mange vigtige afgrødearter kan angribes, herunder alle kornarterne, kartofler samt mange frugt- og grønsagsarter. Almindelige ukrudtsarter kan også inficeres og kan fungere som smitekilde. Angreb på afgrøder kan resultere i udbyttetab, ligesom det er tilfældet for mange andre patogene svampe, men et specielt problem med *Fusarium* er, at de ofte danner mykotoksiner, som er stærkt skadelige for såvel mennesker som dyr. *Fusarium*-toksiner kommer oftest ind i fødekæden via inficeret korn (**Figur 1**).

Nogle *Fusarium*-arter kan inficere og vokse i visse vævstyper hos mennesker og dyr, især hvis disse er svækkede grundet sygdom eller stærk medicinsk behandling. Raske mennesker kan dog også få en *Fusarium*-infektion, f.eks. i øjets hornhinde (cornea). Denne sygdom, *Fusarium* keratitis, er blevet konstateret hos brugere af kontaktlinser samt hos landbrugsarbejdere, som har fået inficeret plantemateriale i øjet.

*Fusarium* gør ikke kun skade. Nogle arter bruges til fremstilling af enzymer, og en specifik art, *Fusarium venenatum*, anvendes direkte som et levnedsmiddel.



**Figur 1.** Hvedekerner med voldsomt angreb af *Fusarium*. Lyserøde og indskrumpede kerner er typiske tegn på angreb af *Fusarium*. Foto: Henny Rasmussen.

## Ordforklaring

**ELISA** - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, en biokemisk metode til detektion ved hjælp af antistoffer.

**Ensilage** - Gærede planter, som bruges som husdyrfoder.

**Forfrugt** - Afgrøde, som blev dyrket forud for den aktuelle afgrøde.

**Fungicid** - Svampemiddel

**Fusariose** - Plantesygdom pga. infektion med *Fusarium*

**LD<sub>50</sub>** - Dødelig dosis for 50% af eksponerede dyr.

**Morfologi** - En organismes udseende, f.eks. form, farve eller struktur.

**Mykotoksin** - Giftstof, som dannes af skimmelsvampe.

**Patogen** - Sygdomsfremkaldende organisme.

**PR-proteiner** - Patogenese relaterede proteiner, som har indflydelse på, om infektion kan ske.

**Reduceret jordbearbejning** - Dyrkning uden pløjning.

**Resistens** - Modstandskraft overfor sygdomme eller skadedyr.

**TDI** - Tolerabelt dagligt indtag.

Man høster svampebiomassen og presser den til en slags kunstigt kød, der sælges i forskellige dybfrostblandinger (Quorn™) fra COOP supermarkeder.

## Fatalt indtag af *Fusarium*-toksiner

Nogle *Fusarium*-toksiner har meget høj akut giftighed og andre har hormonforstyrrende virkning. Indtagelse af *Fusarium*-toksiner kan have fatale følger. Det ses af adskillige eksempler fra både ældre og nyere historie.

I 1932 beskrev russiske forskere en mystisk sygdom hos landbefolkningen i bl.a. Rusland og Kazakhstan. I milde tilfælde led patienterne af kvalme, opkastninger og diarré, og antallet af hvide blodlegemer faldt. I svære tilfælde udviklede patienterne alvorlige udslæt på huden og læsioner i fordøjelseskanalen og andre indre organer, ofte med døden til følge. I forårsmånederne i 1941 til 1947 var sygdommen meget udbredt. Man konstaterede, at sygdommen ikke var smitsom. Derimod fandt man en stærk korrelation mellem forekomst af sygdommen, og indtagelse af korn, som havde været efterladt i marken om vinteren pga. mangel på arbejdskraft. Patienter med mildere sygdomstilfælde blev raske, så snart de holdt op med at spise muggent korn, og sygdommen fik betegnelsen "alimentary toxic aleukia" eller ATA. Sygdommens navn indikerer, at årsagen er et toksin i fødevarer, og at cellerne i blodet påvirkes. *Fusarium*-arterne *F. poae* og *F. sporotrichioides* blev i 1945 isoleret fra kornkerner, som var associeret med sygdommen, men først i 1968 havde man isoleret og karakteriseret T-2 toksinet (**Boks 1**), som formentlig var årsag til de mange sygdomstilfælde og dødsfald.

Alvorlige tilfælde af forgiftninger med *Fusarium*-toksiner er sjældne hos mennesker i udviklede lande, men trods stor opmærksomhed på problemet, kan det ikke udelukkes, at mykotoksiner i kosten også i dag påvirker human sundhed i negativ retning. Forgiftninger er udbredte i de dele af verden, hvor der er ringe fokus på fødevarerikkerhed, og

hvor valget kan stå mellem at spise muggent korn eller at sulte.

Andelen af korn er meget høj i husdyrfoder, og svampetoksiner i korn kan give alvorlige helbredsproblemer hos husdyr. Grise er meget følsomme overfor nogle typer *Fusarium*-toksiner. Det gælder især toksiner, som hører til klasserne trichothecener og zearalenoner (**Boks 1**). Trichothecener som deoxynivalenol (DON) og nivalenol (NIV) kan medføre diarré og nedsat tilvækst, mens zearalenon (ZEA) kan give reproduktionsproblemer, hvis der er for højt indhold i foderet (**Figur 2**).

Heste er især følsomme for en gruppe *Fusarium*-toksiner, som klassificeres som fumonisiner (**Boks 1**). I vinteren 1934-35 døde omkring 5000 heste i Illinois af en sygdom, som mindede om viral encephalomyelitis, men sygdommen var ikke smitsom og blev i stedet associeret med fodring med svampeinficeret majs. Det er siden vist, at fumonisiner kan give neurologiske skader med symptomer, som svarer til de beskrevne sygdomsudbrud.

Drøvtyggere er mindre følsomme for *Fusarium*-toksiner end enmavede dyr, men det har været diskuteret, om dårlig trivsel i kvægbesætninger, kan skyldes fodring med ensilage (gæret plantemateriale) af *Fusarium*-inficerede majsplanter. Majs kan også inficeres af andre toksinproducerende svampe, især af slægten *Aspergillus*, og det er endnu ikke afklaret, om der er en sammenhæng mellem koncentrationen af *Fusarium*-toksiner i foderet og kvægets trivsel.

I et igangværende forskningsprojekt undersøges betydningen af svampetoksiner for sundheden hos kvæg. Det undersøges også i hvor høj grad toksinerne overføres til mælk (**Boks 2**).

## *Fusarium*-arter og sygdomscyklus

På verdensplan findes der omkring 15 arter af *Fusarium*, som angriber kornarterne. *Fusarium*-angreb er årsag til spiringsfusariose, *Fusarium*-fodsyge og aksfusariose i kornmarker. *Fusarium*-arternes relative betydning afhænger



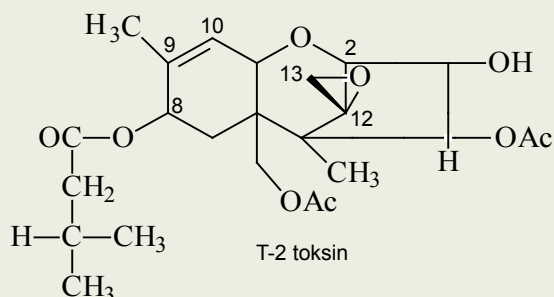
**Figur 2.** *Fusarium*-toksiner af gruppen zearalenoner har østrogen-effekt og kan medføre nedsat reproduktionsevne hos voksne grise. Opsvulmede kønslæber er et af symptomerne hos smågrise. Foto: Erling Zachariassen.

## Boks 1. *Fusarium*-toksinernes kemiske struktur

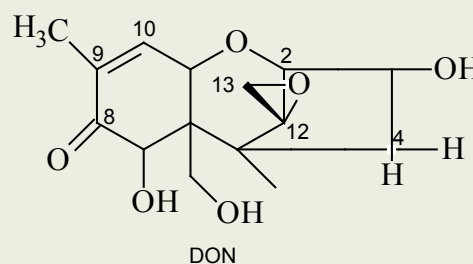
Mykotoksiner inddeles i forskellige klasser efter deres kemiske struktur. De fleste af de mykotoksiner, som kan dannes af *Fusarium*-svampe, hører til klasserne tricothecener, zearalenoner og fumonisiner, men *Fusarium* kan også danne mykotoksiner, som hører til andre klasser. Det gælder for alle toksinernes vedkommende, at de er meget stabile overfor varme og derfor kan findes i forarbejdede levnedsmidler, som f.eks. brød og andet bagværk.

### Tricothecener

En lang række *Fusarium*-toksiner klassificeres som tricothecener, som inddeles i type A og type B. De hyppigst forekommende tricothecener er deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV), som hører til type B, og T-2 toksin og HT-2 toksin, som hører til type A. Alle tricothecener har samme grundstruktur (tricykliske sesquiterpener med en dobbeltbinding i position 9-10 og en cyklisk epoxygruppe i position 12 – 13), men sidekæderne er forskellige. Type A tricothecenerne har en estergruppe med 3 kulstofatomer (propan) i position 8, mens type B tricothecener har en ketongruppe.



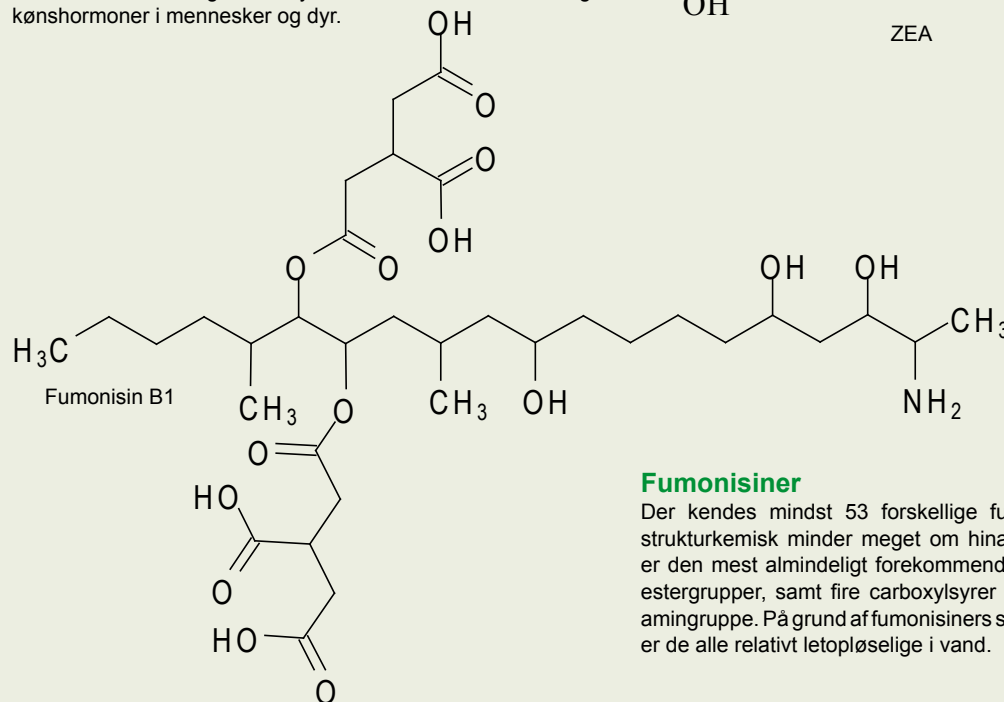
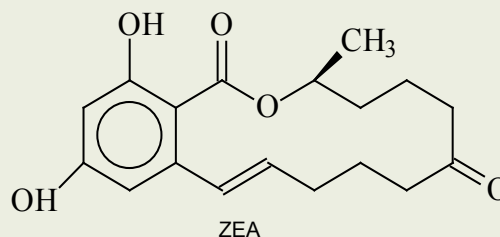
T-2 toksin har en estergruppe med propan i position 8 og hører derfor til type A. HT-2 toksin er identisk med T-2, bortset fra at acetatgruppen i position 4 er erstattet med en OH-gruppe.



Deoxynivalenol (DON) har en ketongruppe i position 8 og hører derfor til type B. Nivalenol (NIV) er identisk med (DON) T-2, bortset fra at NIV har en OH-gruppe i position 4.

### Zearalenoner

Zearalenoner er cykliske laktoner, som indeholder en enkelt ketongruppe og en di-hydroxyleret benzenring. Der findes forskellige varianter, men den hyppigst forekommende er zearalenon (ZEA). På grund af den hydrofobe struktur er vandopløseligheden af zearalenonerne lav. Zearalenon minder om de østrogenmolekyler, som virker som kvindelige kønshormoner i mennesker og dyr.



### Fumonisiner

Der kendes mindst 53 forskellige fumonisiner, som alle strukturkemisk minder meget om hinanden. Fumonisin B1 er den mest almindeligt forekommende. Den indeholder to estergrupper, samt fire carboxylsyrer og en enkelt primær amingruppe. På grund af fumonisiners syre-base egenskaber er de alle relativt letopløselige i vand.

især af klimatiske forhold og afgrødevalg. I Danmark ses oftest *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* og *F. poae*. Arten *F. langsethiae*, som blev opdaget for få år siden, har fået større betydning i byg på det seneste. En art, som er mest kendt som årsag til sygdommen sneskimmel i vinterhvede og vinterbyg, kan også angribe akset. Denne svamp, som i det ukønnede stadium kaldes *Microdochium nivale* (Kønnet stadium, *Monographella nivalis*), blev tidligere regnet for at høre til *Fusarium*-slægten. Ved angreb i akset giver *M. nivale* symptomer, som til forveksling ligner *Fusarium*-angreb, men der dannes ikke toksiner.

Bortset fra *F. graminearum*, kendes kun ukønnede stadier af de nævnte svampearter. Det kønnede stadium af *F. graminearum* kaldes *Gibberella zeae* og ser helt anderledes ud end det ukønnede stadium, og er især kendt fra majs.

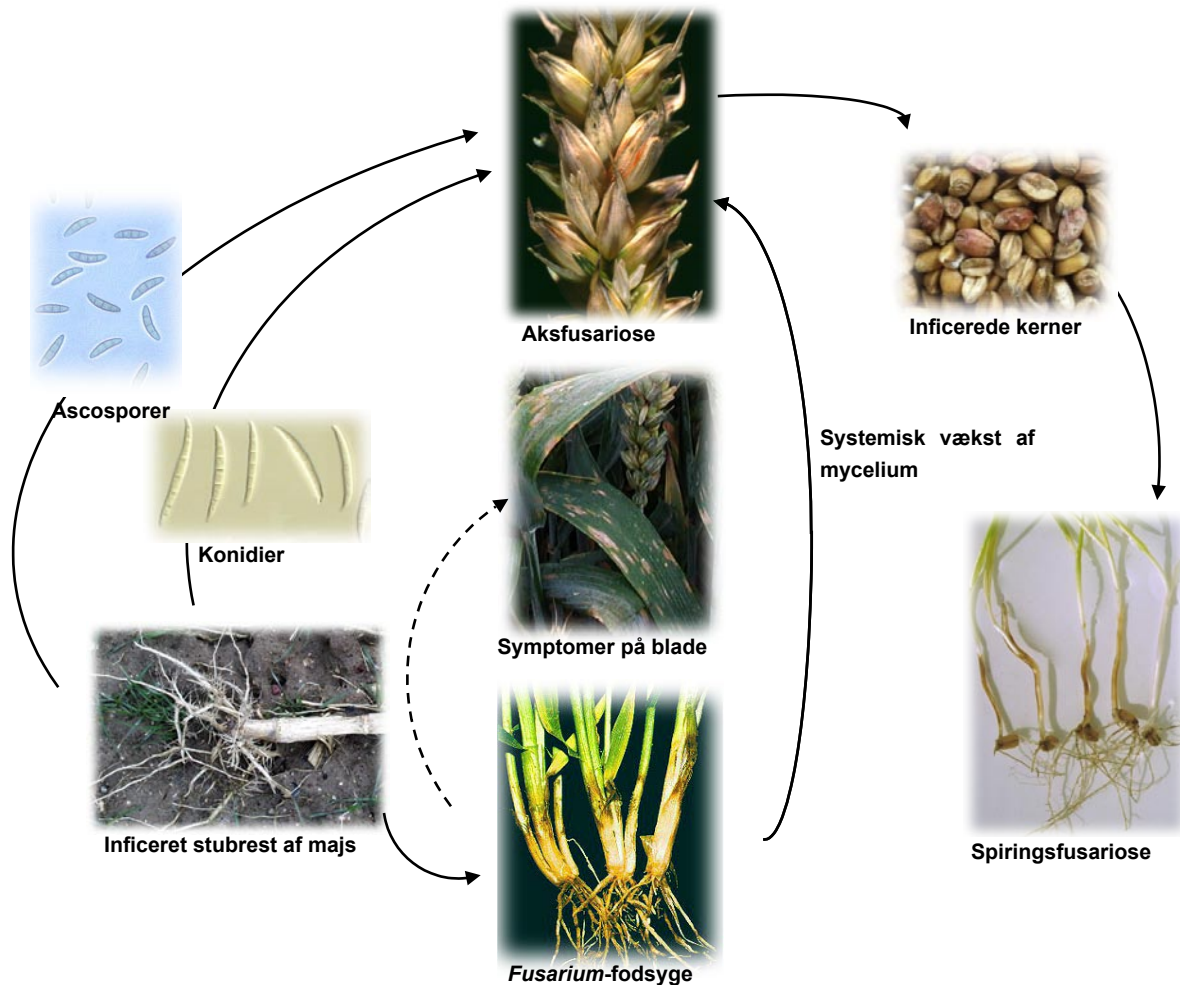
### Smittespredning

*Fusarium*-svampene kan til en vis grad overleve i jorden, men de klarer vinteren bedst på dødt plantemateriale, især

hvis det ligger oven på jorden (**Figur 3**). Her kan svampene producere sporer i stort tal. Spredning af ukønnede sporer (konidier) sker hovedsageligt med regnplask over korte afstande – op til 90 cm horisontalt og 60 cm vertikalt. De kønnede sporer (ascosporer), som dannes af *Gibberella zeae*, kan under særlige vejrforhold spredes med vinden over lange afstande.

Smitte med *Fusarium* kan også komme fra inficerede kerner i såsæden. Smitten fra en inficeret kerne overføres let til kimplanten, men landmændene sørger så vidt muligt for at bruge sygdomsfri såsæd eller såsæd, som er bejdset, dvs. at kernerne er behandlet med et fungicid (bejdsemiddel). Den vigtigste smittekilde til *Fusarium*-angreb er som regel inficerede rester af den foregående afgrøde eller ukrudt, men smitte fra inficeret såsæd kan have stor betydning, hvis der ikke findes patogene *Fusarium*-svampe i forvejen på et givet areal.

Infektion af aks sker især, hvis sporerne spredes, mens kornet blomstrer (**Figur 4**). Svampesporerne skal bruge fugt for at spire, og problemerne med *Fusarium* bliver størst, når



**Figur 3.** Sygdomscyklus for *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*). Den vigtigste smittekilde er inficerede stubrester. Produktionen af både kønnede og ukønnede sporer finder især sted i det døde plantemateriale. Sporer som produceres på de levende planter i vækstsæsonen spiller kun en mindre rolle for smittespredningen.



**Figur 4.** Akxfusariose begynder som regel med at sporer af svampene angriber akset lige omkring blomstring. Svampen trænger ind via støvdragerne, som hænger ud af akset i hvede. Foto: Henny Rasmussen.



**Figur 5.** *Fusarium*-inficeret vårbyg. Inficerede småaks med mycelium (a). Kerner af vårbyg (Scarlett) med angreb af *Fusarium graminearum* (b). Uinficerede bygkerner (c). Foto: Jens Due Jensen.



**Figur 6.** *Fusarium*-inficerede aks fra to forskellige sorter af hvede. Foto: Henny Rasmussen.

det er regnfuldt i kornets blomstringsperiode, som strækker sig over ca. en uge.

### Symptomer på inficerede planter

Symptomerne på *Fusarium*-angreb i marken afhænger af afgrødens udviklingstrin. Angreb på kimplanter (spiringsfusariose) ses som manglende eller ufuldstændig fremspiring i større eller mindre pletter i marken samt hæmmet vækst hos de planter, som spirer frem. Ved *Fusarium*-fodsyge angribes den nedre del af strået.

Symptomerne på akxfusariose er tidlig visning af småaks (**Figur 5a**), og under fugtige forhold ses orange til lyserød svampevækst på akset (**Figur 6**). Kernerne i angrebne aks bliver små og skrumpne i forhold til uinficerede kerner (**Figur 5b og 5c**), og kraftige angreb kan bevirke, at hele eller dele af akset nødmodner.

### Toksinproduktion og sygdomsudvikling

Der er en vis sammenhæng mellem graden af *Fusarium*-angreb og toksinproduktion, men sammenhængen er ikke altid entydig, og mykotoksineres rolle i planten er ikke fuldt klarlagt. Efter infektionen begynder *Fusarium*-svampene at producere toksiner, som kan transporteres i plantens ledningsvæv. Svampene vokser bedst på dødt plantevæv, og det er sandsynligt, at toksinerne gør det lettere for svampen at kolonisere en levende plante ved at slå nogle af plantens celler ihjel.

Trichothecenerne har vist sig at være nødvendige for, at *Fusarium* kan inficere hvede, da de undertrykker plantens forsvarsreaktion, men det er ikke tilfældet hos byg. Mutanter af *Fusarium*, som ikke danner zearalenon, har samme angrebsevne som vildtypen, så det er stadig lidt af et mysterium, hvorfor *Fusarium* laver toksiner i planter.

Mængden og sammensætningen af toksiner i *Fusarium*-inficeret korn afhænger både af *Fusarium*-arten, kornarten, kornsorten, og miljøfaktorer. Der er stor forskel på, hvilke toksiner de forskellige *Fusarium*-arter producerer, og det er ikke alle arter, der danner problematiske toksiner. Nogle kornsorarter kan få visuelle angreb, uden at de får højt indhold af toksiner. Det modsatte, dvs. højt toksinindhold i kornpartier uden tydelige angreb, kan også være tilfældet. Selvom der findes eksempler på, at svampene kan inficere og kolonisere planten, uden at der dannes toksiner i nævneværdige mængder, er der en stor risiko for, at det høstede korn indeholder mykotoksiner, når planten har været angrebet af akxfusariose.

### Måling af toksinkoncentration

Mykotoksiner kan detekteres med en relativt enkel ELISA-test eller med avancerede kemiske analysemetoder. I en ELISA-test tilsættes antistoffer, som binder specifikt til bestemte mykotoksiner til et ekstrakt fra kornprøverne. Hvis antistoffet bindes til et toksin, ændrer prøven farve, og ud fra farvereaktionen kan man vurdere prøvens indhold af det toksin, som antistoffet genkender. ELISA-metoden er hurtig



**Figur 7.** Apparatur til LC-MS/MS analyse. LC-apparatet til venstre adskiller de enkelte toksiner, mens MS/MS-detektoren til højre måler koncentrationen af stofferne. Foto Niels Henrik Spliid.

og billig, men hver ELISA-test detekterer kun ét toksin, og kvantificeringen er ikke særlig præcis.

Væskekromatografi (LC) kombineret med dobbelt massespektrometri (MS/MS) er en meget sikker analysemetode til bestemmelse af biologiske forbindelser (**Figur 7**). Resultatet af en LC-MS/MS analyse viser, hvilke toksiner, der findes i en prøve, samt koncentrationen

af de enkelte toksiner i prøven. LC-MS/MS er en dyr analysemetode, og den bruges derfor fortrinsvis i forskningen.

For at kunne teste mange kornpartier for forskellige svampetoksiner i forbindelse med salg af korn, er der behov for udvikling af nye testmetoder.

### Forekomster og grænseværdier

Ved stikprøver er der konstateret udbredte forekomster af mykotoxiner i kornprodukter i de fleste EU-lande. Der er fundet *Fusarium*-toksiner i korn og forarbejdede kornprodukter som mel og morgenmadsprodukter, men der findes ingen systematisk oversigt over toksinindholdet i kornprodukter i forskellige år, og ofte er der kun analyseret for nogle få af de mange forskellige mykotoxiner, som kan forekomme.

Trods giftigheden af mykotoxinerne er der først fastsat grænseværdier for *Fusarium*-toksiner i fødevarer for nyligt, og der er endnu ikke fastsat grænseværdier for alle de toksiner, som *Fusarium*-svampene kan danne. Det skyldes bl.a., at det er både vanskeligt, dyrt og tidskrævende at foretage præcise målinger af koncentrationen.

I dag findes der EU-grænseværdier for DON og ZEA i korn og majs til fødevarer, samt for fumonisiner i majs (**Tablet 1**). Inden for de næste år vil der også komme grænseværdier for HT-2 toksin og T-2 toksin i korn, hvilket

**Tablet 1.** Grænseværdier og TDI for fusariumtoksiner i korn og kornprodukter til fødevarer (Kommissions forordning (EF) Nr. 1881/2006 af 19. december 2006. Der er ikke EU-grænseværdier for NIV. Det skyldes, at NIV-indholdet som regel følger DON-indholdet. Med LC-MS/MS er detektionsgrænsen for DON, NIV og HT-2 på 10 µg pr. kg korn. For T-2 er den 5 µg pr. kg, og for ZEA kan der detekteres koncentrationer på 2 µg pr. kg. Detektionsgrænserne i halmprøver er 25 µg pr. kg for DON, NIV og HT-2 og 10 µg pr. kg for ZEA og T-2.

Toksin	Produkttype	Grænseværdi (µg/kg)	Tolerabelt daglig indtag, TDI (µg/kg legemsvægt)	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
Deoxynivalenol (DON)	Uforarbejdet korn	1250	1	46-78 (oral, mus)
	Uforarbejdet durumhvede og havre	1750		
	Uforarbejdet majs	1750		
	Korn til direkte konsum, mel af korn, klid og kim, der markedsføres som færdigvare til direkte konsum	750		
	Brød, kager, kiks, snacks og morgenmadscerealier	500		
	Forarbejdede fødevarer baseret på cerealier og baby mad til spædbørn og småbørn	200		
Zearalenon (ZEA)	Uforarbejdet korn, undtagen majs	100	0,2	2000-20.000 (oral, mus)
	Uforarbejdet majs	350		
	Korn, mel, klid, kim til direkte konsum	75		
	Majs til direkte konsum	100		
	Forarbejdede fødevarer baseret på majs til spædbørn og småbørn	20		
Fumonisiner (B1 og B2)	Uforarbejdet majs	4000	2	>500 (oral, mus)
	Majs bestemt til direkte konsum	1000		
	Morgenmadscerealier baseret på majs og snacks	800		
	Forarbejdede fødevarer baseret på majs og baby mad til spædbørn og småbørn	200		
HT-2 og T-2 toksin	Grænseværdier for HT-2 og T-2 toksin er for øjeblikket til forhandling i EU.	-	0.06 (summen af HT-2 og T-2)	5-10 (oral, mus)

for øjeblikket er til forhandling i EU. For foder er der endnu kun vejledende grænseværdier.

### Toksinindhold i uforarbejdet korn

I årene 2003-2007 blev der kørt et monitoringsprogram, hvor Dansk Landbrugsrådgivning, Landscentret udtog prøver hovedsageligt fra marker med vinterhvede. Koncentrationen af mykotoksinerne DON, NIV, ZEA, T-2 og HT-2 målt blev med LC-MS/MS metoden ved det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet. Der blev analyseret ca. 90 hvedeprøver årligt i 2003-2007. Desuden blev toksinkoncentrationerne målt i prøver af triticale og vårbyg i 2005-2007 samt havre i 2006-2007 og rug i 2007.

Resultaterne viste, at DON og NIV forekommer meget hyppigt i dansk hvede. Der er også ZEA i mange hvedeprøver, mens T-2 og HT-2 forekommer mindre hyppigt (**Tablet 2**). Et lignende mønster ses for triticale (**Tablet 3**). I vårbyg, havre og rug var den gennemsnitlige koncentration af DON og ZEA lavere end i hvede, mens koncentrationen af T-2 og HT-2 var højere i vårbyg og havre end i de øvrige kornarter.

Generelt lå toksinkoncentrationerne under grænseværdierne til human ernæring på 1250 µg pr. kg. korn for DON og 100 µg pr. kg. korn for ZEA, men i 2003 og 2004 var grænseværdierne overskredet i mange hvedeprøver. De højeste toksinkoncentrationer blev fundet i prøver fra hvedemarken, hvor der havde været dyrket hvede eller majs som forfrugt, og hvor der ikke havde været pløjet.

2003 og 2004 var fugtige år. Smittetrykket var højt, og der var *Fusarium*-angreb i mange kornmarker. Sommeren 2007 var ekstremt regnfuld, men indholdet af *Fusarium*-toksiner i hvede var ikke tilsvarende højt. Det skyldes, at det var tørvejr netop i den periode, hvor hveden blomstrede. Desuden var de sorter, som blev dyrket i 2007, mindre modtagelige for *Fusarium*-angreb end de sorter, som blev dyrket i 2003 og 2004. I flere andre europæiske lande regnede det i blomstringsperioden i 2007, og her var indholdet af *Fusarium*-toksiner i kornet meget højt.

### *Fusarium*-toksiner i mel

Fødevarestyrelsen (Tidl. Fødevaredirektoratet) har siden 1998 undersøgt forekomsten af visse *Fusarium*-toksiner

**Tablet 3.** Gennemsnitligt indhold (µg/kg) af *Fusarium*-toksiner i hvede i 2003-2007, triticale og vårbyg i 2005-2007 samt havre i 2006-2007 og rug i 2007. \*Prøver fra hvedemarken med majs som forfrugt er udeladt i 2003 og 2004, da de var stærkt overrepræsenterede. Der dyrkes sjældent hvede efter majs.

	Hvede 2003*	Hvede 2004*	Hvede 2005	Hvede 2006	Hvede 2007	Triticale 2005	Triticale 2006	Triticale 2007	Vårbyg 2005	Vårbyg 2006	Vårbyg 2007	Havre 2006	Havre 2007	Rug 2007
DON	685	841	297	91	274	428	84	281	30	24	92	22	44	56
NIV	23	20	15	23	17	18	20	22	48	40	55	19	45	3
ZEA	13	107	6	14	15	3	2	4	0	0	2	0	1	2
HT-2	0	2	2	3	1	0	0	0	26	49	15	38	57	2
T-2	0	1	0	0	0	0	0	0	8	19	4	29	19	0
Antal prøver	87	69	97	89	69	19	20	18	26	29	25	6	22	18

**Tablet 2.** Udbredelse af *Fusarium*-toksiner i hvedemoniteringen 2003-2007. Der blev analyseret 115 prøver i 2003, 76 prøver i 2004, 97 prøver i 2005, 89 prøver i 2006 og 69 prøver i 2007. Marker med reduceret jordbearbejdning og marker med majs som forfrugt er overrepræsenterede.

Toksin	Pct. prøver med fund				
	2003	2004	2005	2006	2007
Deoxynivalenol (DON)	99	99	94	69	91
Nivalenol (NIV)	77	60	64	45	45
Zearalenon (ZEA)	18	63	46	37	41
HT-2	4	8	15	17	7
T-2	4	7	2	2	1

bl.a. DON og NIV i rug- og hvedemel, som blev solgt i danske butikker.

I undersøgelserne fra Fødevarestyrelsen har der ikke været fundet indhold over grænseværdien på 750 µg/kg for DON i mel, men i nogle tilfælde er der målt kritiske mængder i forhold til TDI-værdien. TDI (tolerabelt daglig indtag) er et udtryk for, hvor meget et menneske vurderes at kunne indtage dagligt af det pågældende stof gennem hele livet uden sundhedsmæssig risiko.

I undersøgelser fra bl.a. Norge har der været fundet store overskridelser af TDI-værdien for HT-2 og T-2 toksin. Hos børn, som i forhold til voksne har et relativt højt indtag af kornprodukter i forhold til legemsvægten, har der været overskridelser på mange hundrede procent.

### Færre toksiner i fødevarer og foder

Aksfusariose kan medføre, at kernerne får et uacceptabelt højt indhold af toksiner. Den bedste metode til reduktion af *Fusarium*-toksiner i fødevarer og foder er at reducere forekomsten af fusariose på afgrøderne i marken.

Sprøjtning med fungicider kan medvirke til at holde toksinindholdet under grænseværdierne, men det er i sig selv oftest utilstrækkeligt. Det er mere effektivt at forebygge angreb ved hjælp af jordbearbejdning, et godt sædskifte og dyrkning af de mest resistente sorter. Afgrødevalg og dyrkningspraksis er afgørende for mængden af smitstof i marken og har derfor meget stor betydning for *Fusarium*-angreb i korn og for kornets indhold af toksiner.

### Kemisk bekæmpelse af *Fusarium* er ineffektiv

Nogle svampesygdomme kan bekæmpes meget effektivt i marken med fungicider, men det gælder ikke *Fusarium*. Visse fungicider (bl.a. midler med aktivstoffer som tebuconazol, metconazol, og prothioconazol) kan reducere angrebet af aksfusarium. Effekten af fungicidbehandling på *Fusarium* ligger ofte kun omkring 40-60 % reduktion i symptomudviklingen, og ofte er reduktionen i toksinindhold endnu lavere.

Den bedste effekt af fungicidbehandling opnås, hvis der sprøjtes forebyggende under blomstring, hvor aksene er særligt modtagelige for infektion. Det er vigtigt, at der kommer fungicid på alle aks, mens planterne blomster, men da blomstringen sædvanligvis strækker sig over en uge, kan det være vanskeligt at ramme det helt rigtige tidspunkt for sprøjtning. Sprøjtning kan ikke forhindre overlevende svampe i at danne mykotoksiner, og selvom der er færre synlige tegn på *Fusarium*-angreb, sker der ikke altid en tilsvarende reduktion i toksinkoncentrationen i kernerne.

Forebyggende kemisk behandling af alle kornmarker ville kræve meget store mængder sprøjtemiddel. Derfor anbefales kemisk bekæmpelse af *Fusarium* kun i de marker, hvor der er størst risiko for angreb.

### Jordbearbejdning

Smitte med *Fusarium* kommer oftest fra inficerede planterester på jordoverfladen. Når jorden pløjes, kommer planteresterne så langt ned, så smitterisikoen reduceres betydeligt, men i de seneste år har reduceret jordbearbejdning (pløjefri dyrkning) vundet indpas i mange landbrug. Det giver færre omkostninger, og metoden kan også give miljøfordele.

Undladelse af pløjning giver nedsat risiko for kvælstofudvaskning som følge af nedsat mineralisering. Brændstofforbruget er mindre, og der opbygges en større pulje af organisk materiale i jorden, hvilket giver mulighed for at reducere den samlede CO<sub>2</sub>-belastning. Reduceret jordbearbejdning er også gavnlige for jordbundsfaunaen.

Blandt ulemperne er, at svampesporer kan spredes fra planterester på jordoverfladen fra den foregående afgrøde til den nye afgrøde. Det kan give et større behov for bekæmpelse af svampesygdomme, især hvis der dyrkes afgrøder efter hinanden, som er modtagelige overfor de samme svampe. Det skønnes, at omkring 10 % af hvedearealet blev dyrket uden pløjning i 2007.

### Sædskifte

Smittespredningen fra rester fra den foregående afgrøde (forfrugt) kan begrænses ved at dyrke afgrøder, som ikke er vært for svampene. Afgrødearter, som ikke tilhører græsfamilien (f.eks. ærter, raps og roer), smittes ikke af de samme *Fusarium*-arter som korn og andre græsarter, og de er derfor de bedst egnede forfrugter til hvede.

Landmændene er nødt til at tage afregningspriser og afsætnings- og anvendelsesmuligheder i betragtning,

når sædskiftet planlægges, hvis produktionen skal være økonomisk rentabel. De fleste vigtige landbrugsafgrøder hører til græsfamilien, og det er ikke altid muligt at undgå at dyrke en græsart som forfrugt til kornafgrøder. Dyrkning af frøgræsser (f.eks. rajgræs eller svingel), byg eller havre som forfrugt giver forholdsvis lille risiko for store mængder toksiner i den efterfølgende afgrøde. Hvede regnes for at være middel til højrisiko forfrugter, men den dårligste forfrugt til modtagelige kornafgrøder er majs.

Majs har vundet stor udbredelse i Danmark i de seneste år og har overtaget foderroernes plads som grovfoder til kvæg, bl.a. fordi majs er mindre arbejdskrævende end roer. I USA er der også stor efterspørgsel på majs til fremstilling af bioethanol, og der dyrkes derfor meget mere majs i USA end tidligere.

Der sker en meget kraftig opformering af *Fusarium*-svampe, når der dyrkes majs. Opformering af svampene sker i høj grad på afgrøderesterne efter høst, så selvom der kun har været beskedne angreb på grønne majsplanter, som er blevet høstet til ensilage, vil *Fusarium*-sporer, der udvikles på stubben, give et højt smittetryk for den efterfølgende afgrøde. Der sker også opformering af *Fusarium*-svampe på afgrøderester fra hvede, men som regel ikke lige så voldsomt som på majs.

Reduceret jordbehandling efter dyrkning af majs eller hvede har resulteret i meget høje koncentrationer af *Fusarium*-toksiner i den efterfølgende hvedeafgrøde.

Jordbrugere som praktiserer reduceret jordbearbejdning frarådes at dyrke hvede efter majs og hvede efter hvede. Desuden anbefales det at dyrke sorter med høj grad af resistens. For landmænd, som dyrker brødhvede, er overholdelse af disse krav blevet en del af deres kontrakt.

### Rensning og formaling af korn

Indholdet af *Fusarium*-toksiner i mel kan i nogen grad reduceres ved rensning og formaling af kernerne. En del af de inficerede kerner kan sorteres fra, fordi de kerner, som er blevet angrebet på et tidligt udviklingstrin, bliver meget små. På de øvrige inficerede kerner findes toksinerne i højest koncentration på overfladen af kernerne (kliddelen). Indholdet af DON i mel kan ofte reduceres til omkring 50 % af koncentrationen i de hele kerner, men jo mere klid, der er i melet, jo højere vil toksinindholdet være.

### Forædling for *Fusarium*-resistens

Der er betydelig forskel på forskellige kornsorters modtagelighed overfor *Fusarium*. Visse hvede- og bygsorter har en relativt god resistens, men mange sorter er modtagelige for *Fusarium*. Der arbejdes intensivt på at udvikle nye kornsorter med bedre resistens, men god resistens mod *Fusarium* er et ret kompliceret fænomen, som involverer mange gener.

I de dele af verden, hvor *Fusarium* historisk set har givet de største problemer (f.eks. Kina), har der længe været en intens forædlingsindsats for at begrænse de skadelige

effekter. Især nogle kinesiske hvede- og bygsorter har relativt effektiv resistens, som forædlerne i store dele af verden forsøger at krydse ind i lokale sorter.

### Resistenstyper

Der kendes ingen race-specifikke resistensgener, hvor et enkelt gen giver effektiv beskyttelse mod bestemte arter, stammer eller smitteracer af *Fusarium*. I stedet skal forskellige gener, som hver yder en vis beskyttelse, kombineres. Nogle resistensgener er kortlagt til bestemte områder af genomet, men man kender ikke genernes DNA-sekvens.

En del resistens er knyttet til morfologiske karaktertræk som sortens højde, aksform og blomstringstid. Sporerne spredes ikke så let fra jordoverfladen til aksene på høje sorter, og det er velkendt, at dværagsorter angribes lettere end langstråede sorter.

Oprette og kompakte aks med stak holder på fugtigheden og giver de bedste infektionsbetingelser. Sorter med lang blomstringsperiode, hvor støvdragerne bliver siddende imellem avnerne efter afblomstring, har ligeledes større risiko for at blive angrebet end tilsvarende sorter med kort blomstringsperiode, hvor støvdragerne hurtigt tabes. Høje sorter, som modner tidligt er normalt de mest resistente.

Den resistens, som skyldes morfologiske karakterer er passiv, dvs. at svampeangrebet ikke medfører aktivering af gener eller andre biokemiske reaktioner i plantens celler. For de fysiologiske karakterer, som har betydning for en sorts resistens, "sker der noget" i planten, når svampen forsøger at inficere den, men resistensmekanismerne er ikke velundersøgt.

Svampens direkte indtrængning reduceres noget ved dannelse af cellevægstøkkelser, som indeholder stoffet callose. Ligeledes har man fundet, at stoffet lignin akkumuleres i cellevæggene, og at en gruppe af velkendte svampehæmmende stoffer, de såkaldte PR-proteiner, også ophobes.

Overordnet kan *Fusarium*-resistens opdeles i forskellige typer, som kan evalueres på forskellig vis. I nogle af resistenstyperne kan der indgå både morfologiske og fysiologiske barrierer for *Fusarium*-svampene.

- Type I: Resistens imod infektion. Ved et givet smittetryk bliver færre småaks inficeret.
- Type II: Resistens mod intern vækst. Svampen spredes langsommere i det inficerede væv.
- Type III: Resistens imod kerneinfektion. Færre kerner bliver inficeret.
- Type IV: Tolerance. Udbyttet påvirkes mindre af infektion.
- Type V: Resistens imod akkumulering af mykotoksiner. Planterne inficeres, men indholdet af især trichothecener er lavt.

### Forædlingsmetoder

Udvikling af kornsorter med effektiv *Fusarium*-resistens er

en stor udfordring, bl.a. fordi der skal identificeres genotyper, som er lidt mere resistente end de andre.

Der anvendes forskellige metoder til test af sorters modtagelighed for *Fusarium*. To forskellige metoder dominerer. Enten inokuleres (smittes) blomstrende aks direkte med en sporeopløsning, eller også lægges inficerede majsstubresten ud på forsøgsmarkerne. Begge metoder er afprøvet i Danmark. Angrebsgraderne fra majsmetoden har generelt været for svage, hvilket gør det svært at rangordne forskellige sorter efter resistens. Derfor benyttes primært direkte inokulering.

Der er udviklet genetiske markører, som nedarves sammen med nogle af de kortlagte resistensgener. Som supplement til test af resistens i marken, kan forædlerne bruge markørerne til at undersøge, om udvalgte afkomsplanter indeholder de resistensbærende dele af genomet fra en resistent forældreplante.

### Igangværende forskning

*Fusarium*-angreb i kornafgrøder og indhold af toksiner i foder og fødevarer tages meget alvorligt. Problemet er velkendt i mange Europæiske lande, ikke mindst i områder, hvor majsdyrkning er meget udbredt, hvilket bl.a. gælder for Sydtykland og Frankrig. Også på det Amerikanske kontinent er der stor opmærksomhed på *Fusarium*. I visse områder har angrebene været meget kraftige, og det har givet anledning til, at store kornpartier har været uanvendelige til både menneske og dyrefoder.

Stigende efterspørgsel på majs til fremstilling af bioethanol og til foder har medført, at der dyrkes mere majs mange steder i verden. Det forventes at medføre større problemer med *Fusarium* i kornafgrøderne. Ændringer i klimaet kan også have en effekt.

Forskere verden over bidrager til at øge kendskabet til *Fusarium* og deres samspil med afgrøderne. Målet er primært at begrænse de skader på afgrøder, dyr og mennesker, som skyldes *Fusarium*-angreb, men der forskes også i anvendelse af disse svampe til gavnlige formål, f.eks. biologisk bekæmpelse af skadegørere eller industriel produktion af biologisk aktive molekyler.

Der er opnået stor grundlæggende viden om svampens biologi, og der er udviklet metoder til analyse og karakterisering af toksiner. For eksempel kan man nu artsbestemme *Fusarium* efter deres indhold af toksiner og andre metabolitter. Tidligere har man brugt morfologiske træk til at adskille forskellige arter, men dels er det meget vanskeligt at se forskel, dels fortæller svampens udseende ikke noget om toksinproduktionen. Med det kemiske fingeraftryk kan man samtidig med artsbestemmelse afgøre, hvilke toksiner, som dannes af det undersøgte isolat.

Med udviklingen af forskellige DNA-teknologier og sekventering af flere *Fusarium*-arters genom er det i dag muligt at lave artbestemmelser og slægtsskabsanalyser, der viser noget om evolutionen af arterne. Hurtige og relativt billige DNA-test kan også bruges til at bestemme arterne i

## Boks 2. Danske forskningsprojekter med fokus på *Fusarium*

I Danmark er forskere fra flere forskellige institutioner igang med projekter med fokus på *Fusarium*. Der er tradition for samarbejde på tværs af faggrænser, forskningsinstitutioner og nationale grænser. Følgende forskningsprojekter er igang.

### Monitering af *Fusarium*-toksiner i vinterhvede

Landscentret gennemførte i 2003-2007 en undersøgelse over indholdet af *Fusarium*-toksiner i hvede i samarbejde med Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet med støtte fra landbrugserhvervet. Formålet var at kunne vurdere omfanget af problemet i Danmark i relation til grænseværdierne. Endvidere var formålet at vurdere dyrkningsforholdenes indflydelse på indholdet af *Fusarium*-toksiner. I 2003-2007 blev der analyseret prøver fra 80-100 hvedemarker. Prøverne blev indsamlet af konsulenter fra Landscentret og blev analyseret ved Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet. Moniteringen vil blive videreført i et mere begrænset omfang fremover. Kontaktperson: Ghita Cordsen Nielsen.

### Screening af sorter for resistens

Hvert år screenes et større antal sorter for deres modtagelighed overfor *Fusarium*. Sorterne dyrkes i markforsøg, og under kornets blomstring smittes med en opløsning af sporer. Efterfølgende bedømmes aksangreb, og toksinindholdet i kornprøverne måles. Disse undersøgelser er erhvervsfinansierede. Kontaktperson: Lise Nistrup Jørgensen.

### *Fusarium*-toksiner i majsensilage

Projektet "Mycotoxin carry-over from maize silage via cattle into dairy products" er støttet af Direktoratet for FødevarerErhverv (DFFE). Formålet med projektet er at afklare om mykotoksin kontaminering af foder er skyld i sygdom og nedsat ydelse hos malkekvæg og om mykotoksiner kan overføres fra foder til blod og mælk. Udover forbrugersikkerhed vil projektet beskæftige sig med dyrevelfærd, da det er kendt at kvæg der fodres med dårlig majsensilage kan udvise dårlig trivsel, vægttab og nedgang i mælkeydelse. Dertil kommer de mange rapporter om dødsfald i kvægbesætninger. Samlet set kendes årsagerne til disse observationer dog ikke.

Der vil blive fokuseret på forurening af majs med mykotoksiner på grund af svampevækst på marken, hvor det ofte vil være *Fusarium*, der er tilstede. Der vil dog også blive set på svampevækst samt mykotoksinproduktion under ensilering, men under sådanne forhold kan *Fusarium* ikke vokse. Endvidere vil der blive udviklet multi-toksin analysemetoder til majs og ensilage.

Til detektion af *Fusarium* og de andre svampe, der forekommer i disse miljøer, vil der blive udviklet DNA chip baserede metoder. Mykotoksinerne metaboliseres i kvæg vil blive undersøgt ved at benytte multikateteriserede køer, der fodres med majsensilage under kontrollerede forhold. I projektet vil blod, vomvæske, mælk m.m. blive analyseret for at bestemme, om mykotoksiner bliver overført hertil fra foderet - enten direkte eller i metaboliseret form - med nedsat dyrevivsel og kontaminering af mælkeprodukter til følge. Projektet blev påbegyndt i 2005, afsluttes i 2009 og har deltagelse af Institut for Systembiologi ved DTU, Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet ved AU, Landscentret og Plantedirektoratet. Kontaktperson: Ulf Thrane.

### Detektion af *Fusarium*-svampes DNA

Udvikling af nye teknikker til påvisning af *Fusarium* i korn støttes via projektet "DNA-chip for monitoring fungi in cereals" af Direktoratet for FødevarerErhverv (DFFE). Med henblik på kontrol af kornpartier til konsum og foder udvikles nye metoder til at bedømme indholdet af *Fusarium*-toksiner i korn. De nye metoder skal kunne detektere alle relevante toksiner og vise om koncentrationen overskrider grænseværdierne. Desuden skal analysemetoderne være både hurtige og billige, så det bliver overkommeligt at teste mange prøver.

Ved Aarhus universitet, Institut for Plantebeskyttelse og Skadedyr udvikler man hurtigmetoder til at kvantificere indholdet af de enkelte *Fusarium*-arter i korn. Med de nye metoder måles toksinniveaulet indirekte, idet man måler indholdet af DNA eller RNA fra specifikke toksinproducerende *Fusarium*-arter. Målemetoderne bygger enten på kvantitativ PCR eller på hybridisering til DNA chips. Hver *Fusarium*-art danner bestemte mykotoksiner, og det ser ud til at mængden af DNA eller RNA fra de enkelte *Fusarium*-arter i kornet giver et godt billede af koncentrationen af de forskellige toksiner i kornet.

Sammenhængen mellem transkription af gener involveret i toksinsyntese og produktionen af stoffet undersøges under forskellige vækstbetingelser for svampen for at opnå en forståelse af, hvad der sætter toksin produktion igang. Desuden er der udviklet meget effektive transformationsteknologier der gør det muligt at manipulere med svampen, så der kan laves rapportørstammer med GFP og mutanter, der ikke er istand til at lave toksiner. Denne del af projektet udføres ved Det Biovidenskabelige Fakultet, KU. Projektet blev påbegyndt i 2003 og er ved at være afsluttet. Kontaktpersoner: Mogens Nicolaisen og Henriette Giese.

### Resistens, toksiner og foderkvalitet

Et større dansk forskningsprojekt med titlen "*Fusarium* disease resistance – toxins and feed quality" blev påbegyndt i 2007 og skal fortsætte til 2010. Projektet støttes af Direktoratet FødevarerErhverv, Plant Biotech Denmark samt Det Biovidenskabelige Fakultet ved KU. Projektet udføres af forskere fra Det Biovidenskabelige Fakultet ved KU, Institut for Systembiologi ved DTU og Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet ved AU. Projektet omhandler *Fusarium*-resistens med specielt fokus på toksiner og fødevarer/foder kvalitet. Målet med projektet er at undersøge, hvilke resistensmekanismer, der aktiveres i byg efter infektion med *F. graminearum*, og hvordan disse påvirkes/afhænger af proteinindholdet og proteinkvaliteten i kernen. Ydermere ønskes det undersøgt, om aktivering af plantens eget forsvar stresser patogenet, så der produceres toksiner. Derudover ønskes det også undersøgt, om jordbrugsrelaterede faktorer så som tilgængeligheden af kvælstof og tørkestress påvirker akkumuleringen af toksiner. Kontaktperson: David B. Collinge.

## Boks 2, fortsat

### Genbrug af næringsstoffer til svampens infektionsproces

I projektet "Selv-kannibalisme som en virulens faktor hos plantepatogene svampe", som støttes af Willum Kann Rasmussen Fonden, undersøges autofagi-processen i samspillet mellem *Fusarium* og byg. Autofagi er en essentiel proces hos eukaryote organismer, hvorved defekte organeller og proteiner bliver fjernet og næringsstofferne genbrugt. Hos patogene svampe udgør autofagi en ideel proces til at omfordele næringsstoffer under infektionsprocessen, inden de kan få fat i plantens næringsstoffer, og i planten til at fjerne cellulære nedbrydningsprodukter fra døende celler. Derfor kan autofagi spille en central rolle for svampens evne til infektion og plantens evne til at begrænse skaderne. Vi har fremstillet en *Fusarium*-mutant, der mangler autofagi-processen og vist, at den giver mindre infektion i forhold til den normale type. Projektet blev påbegyndt i 2007 og afsluttes i 2010. Kontaktperson: Henriette Giese.

### Opdagelse af nye bioaktive stoffer i *Fusarium*

Transformationsteknologi bliver brugt til at fremstille mutanter, der overudtrykker eller slukker for expressionen af gener der forudsigt at være involveret i toksinproduktion. Ved kemisk analyse af disse mutanter og den oprindelige *Fusarium*-stamme er det muligt at identificere og karakterisere stofferne. Et stof er på denne måde ved at blive karakteriseret og det vil blive undersøgt om det har toksiske effekter eller kan udnyttes biomedicinsk. Projektet finansieres af Forskningsrådet for Teknologi og Produktion og gennemført i perioden 2007-2010. Kontaktpersoner: Henriette Giese og John Nielsen.

en given frøprøve og dermed til at forudsige, hvilke toksiner der findes i prøven.

Den praktiske jordbrugsforskning og forædling af resistente kornsorter er afgørende for landmændenes muligheder for at dyrke korn med lavt indhold af toksiner. Resultaterne af markforsøg osv. formidles til konsulenter og landmænd via fagtidsskrifter mv. og nye anbefalinger implementeres hurtigt. Der er dog lang vej endnu, før de skadelige effekter af *Fusarium* og deres toksiner er elimineret. Der mange danske forskningsprojekter igang (**Boks 2**), men det er vigtigt fortsat at udforske *Fusarium* og deres samspil med andre organismer på alle niveauer.

## Referencer og videre læsning

Dejardins, A.E. (2006). *Fusarium* Mycotoxins. Chemistry, Genetics and Biology. The American Phytopathological Society, USA.

Gale, L.R., Bryant, J.D., Calvo, S., Giese, H., Katan, T., O'Donnell, K., Suga, H., Taga, M., Usgaard, T.R., Ward, T.J., Kistler, H.C. (2005). Chromosome complement of the fungal plant pathogen *Fusarium graminearum* based on genetic and physical mapping and cytological observations. *Genetics* 171:985-1001.

Gareis, M. (Coordinator; 2003). Collection of occurrence data of *fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Member States. A scientific co-operation (SCOOP) Task 3.2.10.

<http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/task3210.pdf>

Leonard, K.J. og Bushnell, W.R. (2003). *Fusarium* Head Blight of Wheat and Barley. The American Phytopathological Society, USA.

Leslie, J.F., Summerell, B.A. (2006) The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Ames (Iowa, USA).

Lysøe, E., Klemsdal, S.S., Bone, K.R., Frandsen, R.J.N., Johansen, T., Thrane, U., Giese, H. (2006). The PKS4 gene of *Fusarium graminearum* is essential for zearalenone production. *Applied and Environmental Microbiology* 72:3924-3932.

Malz, S., Grell, M.N., Thrane, C., Maier, F.J., Rosager, P., Felk, A., Albertsen, K.S., Salomon, S., Bohn, L., Schäfer, W., Giese, H. (2005). Identification of a gene cluster responsible for the biosynthesis of aurofusarin in the *Fusarium graminearum* species complex. *Fungal Genetics and Biology*. 2005, 42:420-433.

Moss, M.O., Thrane, U. (2004). *Fusarium* taxonomy with relation to

trichothecene formation. *Toxicological Letters* 153: 23-28.

Nicolaisen, M., Justesen, A.F., Thrane, U., Skouboe, P. Holmstrøm, K. (2005). An oligonucleotide microarray for the identification and differentiation of trichothecene producing and non-producing *Fusarium* species occurring on cereal grain. *Journal of Microbiological Methods* 62: 57-69.

Nielsen, G.C., Jensen, J.E. (2004). Monitoring af *Fusarium*-toksiner i vinterhvede i 2003. *Planteavlsvurdering* nr. 09-654.

Nielsen, G.C., Jensen, J.E., Spliid, N.H., Jørgensen, L.H. (2004) Monitoring af *Fusarium*-toksiner i vinterhvede i 2004. *Planteavlsvurdering* nr. 09-699.

Nielsen, G.C., Jensen, J.E., Spliid, N.H., Jørgensen, L.H. (2005). Monitoring af *fusarium*toksiner i vinterhvede i 2005. *Planteavlsvurdering* nr. 09-738.

Nielsen, G.C., Jensen, J.E., Spliid, N.H., Jørgensen, L.H. (2007). Monitoring af *fusarium*toksiner i vinterhvede i 2006. *Planteavlsvurdering* nr. 09-795.

Nielsen, G.C., Jensen, J.E., Spliid, N.H., Jørgensen, L.H. (2008) Monitoring af *fusarium*toksiner i vinterhvede i 2007. *Planteavlsvurdering* nr. 09-838.

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

Rasmussen, P.H., Ghorbani, F., Petersen, A. (2007). Annual variation of deoxynivalenol in Danish wheat flour 1998-2003 and daily intake by the Danish population. *Food Additives and Contaminants* 24: 315-325.

Thrane, U. (2001). Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on secondary metabolites. In: Summerell, B.A., Leslie, J.F., Backhouse, D., Bryden, W.L., Burgess, L.W. (Eds.), *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 29-49.

Thrane, U. (2007) Fungal protein for food. In: Dijksterhuis, J., Samson, R.A. (Eds.), *Food mycology. A multifaceted approach to fungi and food*. CRC Press, Boca Raton, pp. 353-360.

US Wheat and Barley Scab Initiative (USWBSI).

[www.scabusa.org](http://www.scabusa.org).