



***Alternaria* i svensk spannmål**

Infektionsgrad, morfologisk sektionsbestämning
och toxinanalys av infekterade spannmålsprover

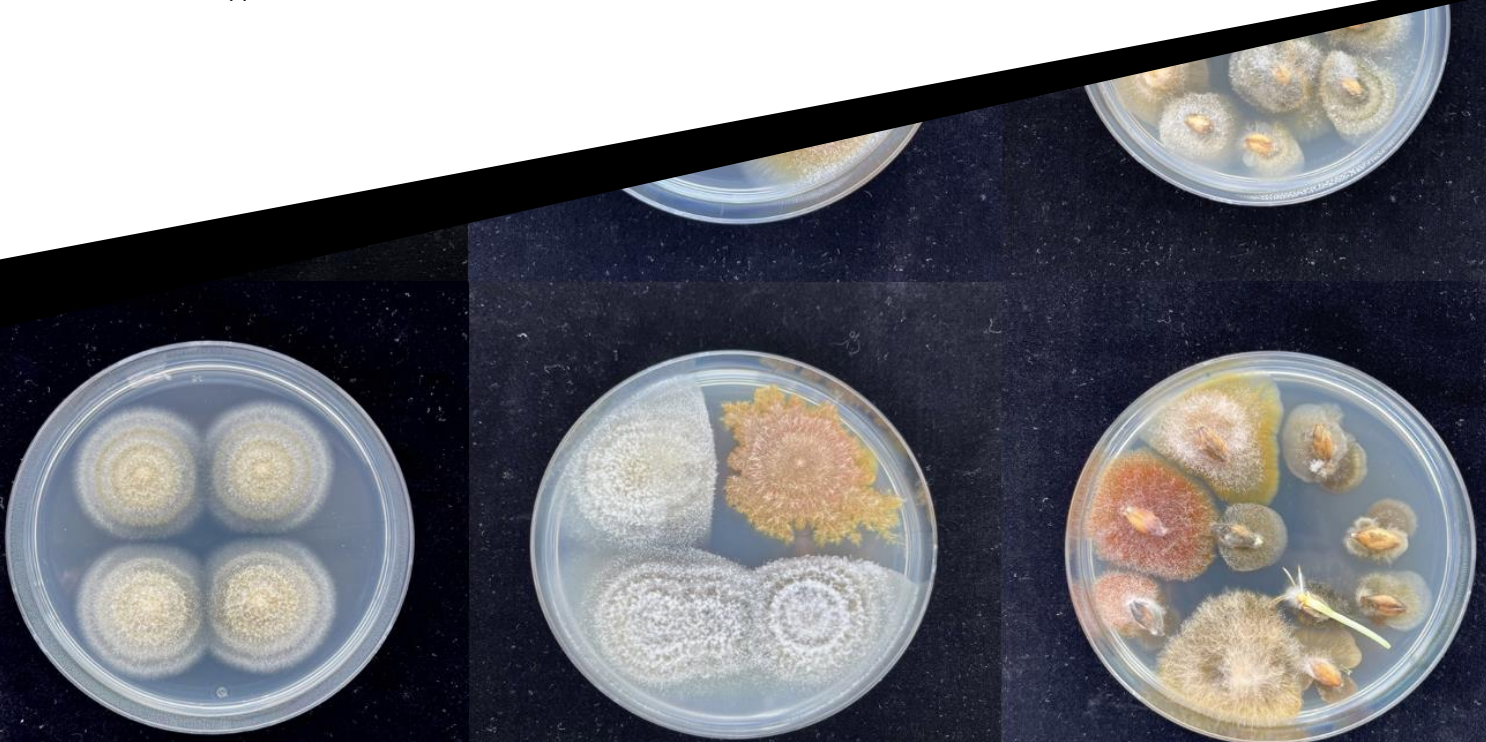
Malva Myrehed

Examensarbete/Självständigt arbete • 15 hp

Sveriges lantbruksuniversitet, SLU

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap / Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi
Växtodlingsprogrammet

Uppsala 2025



***Alternaria* i svensk spannmål. Infektionsgrad, morfologisk sektionsbestämning och toxinanalys av infekterade spannmålsprover.**

Alternaria in Swedish Cereal. Infection rate, morphologic classification of section, and toxic analysis of infected grain samples.

Malva Myrehed

Handledare:	Hanna Friberg, SLU, Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi
Bitr. handledare:	Su-Lin Hedén, SLU, Institutionen för molekylära vetenskaper
Examinator:	Björn Andersson, SLU, Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi
Omfattning:	15 hp
Nivå och fördjupning:	Grundnivå, G2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i biologi
Kurskod:	EX0894
Program/utbildning:	Växtodlingsprogrammet
Kursansvarig inst.:	Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2025
Omslagsbild:	Malva Myrehed
Upphovsrätt:	Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.
Nyckelord:	<i>Alternaria</i> sektion <i>Alternaria</i> , <i>Alternaria</i> sektion <i>Infectoriae</i> , mykotoxiner, sotdagg.

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap

Institutionen för skoglig mykologi och växtpatologi

Sammanfattning

Risken för infektion av växtpatogena svampar kommer troligen att bli högre i Sverige i och med klimatförändringar som skapar en mer gynnsam miljö för infektion och tillväxt av svampar.

Alternaria är en vanligt förekommande växtpatogen världen över och kan orsaka sjukdomarna sotdagg och ”black point” i spannmål. Vid infektion produceras i vissa fall mykotoxiner som kan vara hälsofarligt vid konsumtion. Fält kraftigt drabbade av sotdagg observerades 2006 och åter igen 2023. För att undersöka vilka sektioner av *Alternaria* som är mest förekommande i Sverige samt undersöka halten av mykotoxiner samlades spannmålsprover in från infekterade spannmålspartier 2023. I detta arbete undersöktes kärnorna för bedömning av infektionsgrad, sektionsfördelning och toxinhalt. Resultatet visade att infektionsgraden varierade mellan 10–100% med en median på 90% och att den mest förekommande sektionen var *Alternaria* sektion *Infectoriae*. Toxinanalysen visade att fem av de mest förekommande *Alternaria*-toxiner återfanns med varierande koncentrationer i majoriteten av proverna där Alternariol var den mest förekommande toxinet. Det visar på en ökad risk för *Alternaria*-toxiner i svensk spannmål.

Nyckelord: *Alternaria* sektion *Alternaria*, *Alternaria* sektion *Infectoriae*, mykotoxiner, sotdagg.

Abstract

The risk of infection by plant pathogenic fungi is expected to increase in Sweden due to climate changes, which create more favourable conditions for fungi growth and infection. *Alternaria* is a globally prevalent plant pathogen that can cause the diseases sooty mould and black point in cereal. In infected grain, *Alternaria* sections may produce mycotoxins, which pose potential health risks upon consumption. Fields affected by sooty mould was observed in 2006 and again in 2023. To investigate which sections of *Alternaria* are most prevalent in Sweden and to determine the concentration of the associated mycotoxins, cereal samples were collected from infected grain lots in 2023. In this study, the kernels were analysed to assess extent of infection, distribution of sections, and toxin concentration. The result show that the extent of infection ranged from 10% to 100% of kernels with a median of 90%, and that the most dominant *Alternaria* section was *Alternaria* section *Infectoriae*. The toxin analyses revealed the presence of five *Alternaria* toxins in most of the samples, with Alternariol being the most abundant. This indicates an increasing risk of mycotoxins in Swedish cereals.

Keywords: *Alternaria* section *Alternaria*, *Alternaria* section *Infectoriae*, mycotoxins, sooty mould (mold).

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	8
Figurförteckning	9
Förkortningar	11
1. Inledning	12
2. Bakgrund	13
2.1 <i>Alternaria</i> spp.....	13
2.2 <i>Sotdagg</i>	14
2.2.1 Black point.....	15
2.3 <i>Mykotoxiner</i>	15
2.3.1 <i>Alternaria</i> -toxiner	16
3. Material och metod	18
3.1 <i>Litteratursökning</i>	18
3.2 <i>Insamling av växtmaterial</i>	18
3.3 <i>Bedömning av Alternaria-infektion</i>	18
3.3.1 Infektionsgrad av <i>Alternaria</i>	18
3.3.2 Isolering av <i>Alternaria</i> -kolonier.....	21
3.3.3 Identifiering av <i>Alternaria</i> till sektion.....	22
3.4 <i>Toxinanalys</i>	24
3.5 <i>Dataanalys</i>	26
4. Resultat	27
4.1 <i>Alternaria och Alternaria-toxiner i svensk spannmål</i>	27
4.2 <i>Förekomst och sammansättning av Alternaria i svensk spannmål</i>	28
4.2.1 Kärnprover	28
4.2.2 Mjölprover.....	29
4.3 <i>Alternaria-toxiner i svensk spannmål</i>	30
5. Diskussion.....	32
5.1 <i>Förekomst och sammansättning av Alternaria</i>	32
5.1.1 Förekomst av <i>Alternaria</i>	32
5.1.2 Sammansättning av <i>Alternaria</i>	32

5.2	<i>Förekomst av Alternaria-toxiner</i>	33
5.3	<i>Arbete framöver</i>	34
5.4	<i>Slutsats</i>	35
Referenser		36
Tack		39
Bilaga 1		40

Tabellförteckning

Tabell 1. Optimerade LC-MS/MS instrumentella parametrar för Alternaria-toxiner och förhållandet mellan massa och laddning (m/z) för 6 toxiner (AOH, AME, TeA, ALT, ATX-I, TEN). De optimerade parametrarna utgörs av Rt (Retention time), DP (Declustering potential), EP (Entrance Potential), CE (Collision Energy) och CXP (Collision cell exit potential). Standardiserad isotopmärkning för U-[¹³ C ₁₀]-Tenuazonsyra och U-[¹³ C ₁₄]-Alternariol.	26
Tabell 2. Alternaria-förekomst uttryckt i procent för 25 insamlade spannmålsprover, antalet isolerade kolonier som bestämdes till sektion Alternaria respektive sektion Infectoriae. (–) innebär 0 observerade Alternaria-kolonier. Koncentrationen (µg/kg) av 6 Alternaria-toxiner som produceras av sektion Alternaria (AOH, AME, TeA, ALT, ATX-I, TEN) och sektion Infectoriae (ATX-I). Toxinkoncentrationen visar medelvärde av 3 tekniska replikat för varje prov. (*) innebär ett värde mellan LOD och LOQ (Tabell 4).	27
Tabell 3. Antalet kolonier av sektion Alternaria respektive sektion Infectoriae samt Alternaria-sporer per massa mjölprov för fyra slumpässigt utvalda spannmålsprov som malts till mjöl. Av proverna var två havre (prov 8, 10) och 2 var korn (prov 18, 19).	30
Tabell 4. Limits of detection (LOD) och limits of quantification (LOQ) för Alternaria-toxiner (AOH, AME, TeA, ALT, ATX-I och TEN) och för varje spannmålsslag (havre, korn och vete).	30

Figurförteckning

Figur 1. Livscykel för <i>Alternaria</i> i spannmål.	14
Figur 2. Exempel på plattor som inkuberas i ljuscykel med 8 timmars ljus och 16 timmar mörker per dygn.	19
Figur 3. Exempel på agarplatta där kornkärnor har placerats på DCMA och inkuberats under ljus (8 h ljus/16 h mörker) i 25°C i 6–7 dagar. Prov 15.	19
Figur 4. Exempel på agarplatta där vetekärnor har placerats på DCMA och inkuberats under ljus (8 h ljus/ 16 h mörker) i 25°C i 5–7 dagar. Prov 13.	19
Figur 5. Exempel på <i>Alternaria</i> -konidier som växer på en kornkärna (svart på kärnan). 20	
Figur 6. Exempel på <i>Alternaria</i> -konidier som växer på en vetekärna (svart på kärnan). 20	
Figur 7. Exempel på agarplatta med mjölprov. Prov 10 med spädning $(1 \cdot 10)^{-3}$ g/l som växt på DCMA. Observerbara kolonier av <i>Alternaria</i> (grå) och <i>Cladosporium</i> (svarta) samt oidentifierade vita kolonier.	21
Figur 8. Exempel på agarplatta med mjölprov. Prov 19 med spädning $(1 \cdot 10)^{-3}$ g/l som växt på DCMA. Observerbara kolonier av <i>Alternaria</i> (grå) och <i>Cladosporium</i> (svarta) samt oidentifierade vita och gula kolonier.	21
Figur 9. Exempel på agarplatta med isolat från kärnprov som punkt- och streckinokulerats till DCMA. Prov 6. Observerbara kolonier av <i>Alternaria</i> (grå) och oidentifierade kolonier (brun och gul).	22
Figur 10. Exempel på agarplatta med isolat från kärnprov som punkt- och streckinokulerats till DCMA. Prov 23. Observerbara kolonier av <i>Alternaria</i> (grå) och oidentifierade kolonier (röd och gul).	22
Figur 11. Exempel på agarplatta med isolat som punktinokulerats från en <i>Alternaria</i> -koloni som odlats på DCMA från kärnprov. Prov 12 som växt på DCMA, observerbara kolonier av sektion <i>Infectoriae</i> (överst) och sektion <i>Alternaria</i> (under).	23
Figur 12. Exempel på agarplatta med isolat som punktinokulerats från en <i>Alternaria</i> -koloni som odlats på DCMA från kärnprov. Prov 12 som växt på DRYES, observerbara kolonier av sektion <i>Infectoriae</i> (vit) och sektion <i>Alternaria</i> (brun).	23
Figur 13. Exempel på agarplatta med isolat som punktinokulerats från en <i>Alternaria</i> -koloni som odlats på DCMA från kärnprov. Prov 19 som växt på DRYES, observerbara kolonier av sektion <i>Infectoriae</i> (vit).	23

Figur 14. Exempel på agarplatta med isolat som punktinokulerats från en <i>Alternaria</i> -koloni som odlats på DCMA från kärnprov. Prov 10 som växt på DCMA, observerbara kolonier av sektion <i>Infectoriae</i> (grå).	23
Figur 15. Exempel på sporer från sektion <i>Infectoriae</i> i mikroskop från en <i>Alternaria</i> -koloni som växt på DCMA.	24
Figur 16. Exempel på sporer från sektion <i>Alternaria</i> i mikroskop från en <i>Alternaria</i> -koloni som växt på DCMA.	24
Figur 17. Andelen av isolat som bestämdes till <i>Alternaria</i> efter att sporer och mycel av <i>Alternaria</i> isolerats i två steg från kärnor och inkuberats på DCMA (hela stapeln). Andelen av <i>Alternaria</i> -kolonier som var <i>Alternaria</i> sektion <i>Alternaria</i> (röd) och <i>Alternaria</i> sektion <i>Infectoriae</i> (orange) efter inkubering på DCMA och DRYES i andra isoleringen. Identifiering av <i>Alternaria</i> -sektion genom morfologisk bestämning i sterolupp och mikroskop samt kolonifärg på DRYES. I prov 7 och 22 bestämdes inga av isolaten till <i>Alternaria</i>	29
Figur 18. Koncentration av fem <i>Alternaria</i> -toxiner (AOH, AME, ATX-I, TEN, TeA) i de 25 spannmålsproverna. Koncentrationer under LOD och LOQ eller ett värde mellan LOD och LOQ visas inte i diagrammet.	31

Förkortningar

Förkortning	Betydelse
DCMA	Dichloran chloramphenicol malt agar plates
DRYES	Dichloran Rose bengal Yeast Extract Sucrose agar
HST	Host specific toxin
nHST	Non-Host specific toxin
TeA	Tenuazonsyra
AOH	Alternariol
AME	Alternariol monometyleter
ALT	Altenuen
ATX-I	Altertoxin-I
TEN	Tentoxin
LOD	Limits of detection
LOQ	Limits of quantification
TTC	Threshold of Toxicological Concern
EFSA	European Food Safety Authority

1. Inledning

Infektion av olika växtpatogena svampar kommer troligen att bli vanligare i Sverige i och med den globala uppvärmningen som skapar ett mer gynnsamt klimat för infektion och tillväxt (Puvača et al. u.å.). Släktet *Alternaria* är en vanligt förekommande växtpatogen världen över (Thomma 2003). I spannmål orsakas infektion främst av två sektioner, *Alternaria* sektion *Alternaria* och *Alternaria* sektion *Infectoria* som båda kan ge upphov till sjukdomarna sotdagg och ”black point”. Angreppen påverkar främst den fotosyntetiska förmågan men kan även ge negativa effekter på kärn- och gröningskvalitet (Ünal & Çakır u.å.). Sektion *Alternaria* kan vid infektion på spannmål producera flera olika mykotoxiner som vid konsumtion kan vara toxiska för människor och djur (EFSA 2011). EU kommissionen publicerade 2022 en ny rekommendation (2022/553) om att övervaka halten *Alternaria*-toxiner i livsmedel (European Commission 2022). I Europa kan *Alternaria*-toxiner främst vara farliga för spädbarn och småbarn eftersom de ofta äter en kost riklig på spannmål. Även en växtbaserad kost ökar risken för hög ackumulering av *Alternaria*-toxiner (EFSA et al. 2016).

Vid ökad risk för infektion av svampar på spannmål ökar även risken för mykotoxiner i svenskproducerade växtbaserade livsmedel vid angrepp av mykotoxinproducerande svampar (Puvača et al. u.å.). I Sverige sågs kraftigt drabbade fält av sotdagg och troligen ”black point” 2006 och åter igen 2023. För att skapa en uppfattning av toxinprofilen och vilka *Alternaria*-sektioner som finns i svensk spannmål samlades 25 spannmålsprover in från drabbade partier vid spannmålsmottagningen 2023.

I detta arbete undersöktes de insamlade växtproverna laborativt genom inkubering av mjöl- och kärnprover på agar och isolering av *Alternaria* med syfte att besvara frågeställningarna (1) Vad är infektionsgraden av *Alternaria* i spannmålsproverna? (2) Vad är förekomsten av sektionerna *Alternaria* och *Infectoria* i spannmålsproverna? En toxinanalys på spannmålsproverna gjordes 2023 på Cranfield University för att besvara frågeställningen (3) Vad är koncentrationen av 6 utvalda *Alternaria*-toxiner i spannmålsproverna?

2. Bakgrund

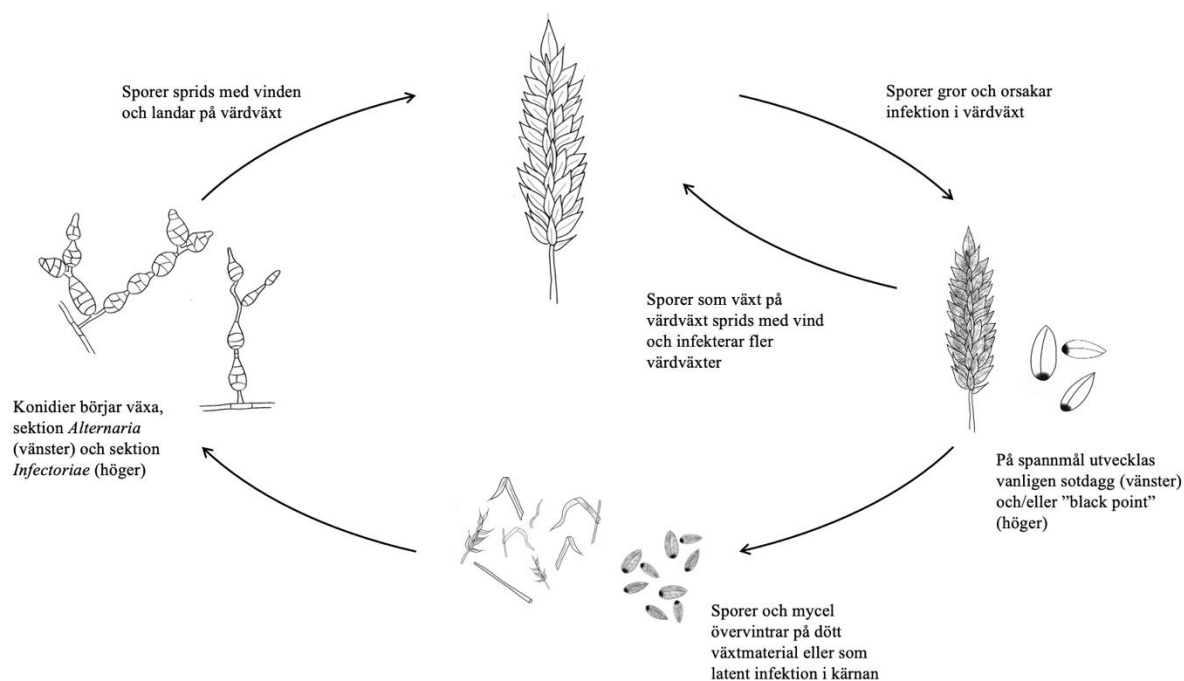
2.1 *Alternaria* spp.

Alternaria är ett släkte svampar som består av över 250 arter och är vanligt förekommande världen över. De flesta arter kan växa saprotrofiskt och även orsaka olika växtsjukdomar hos de flesta odlade grödorna (Thomma 2003). I många spannmålgrödor är *Alternaria* en av de vanligast förekommande växtpatogenerna och i länder där förekomsten har undersökts var uppskattningsvis 90% av spannmålet drabbat (Pinto & Patriarca 2017). Merparten *Alternaria*-arter som kan orsaka växtsjukdomar följer samma infektionsmönster och har liknande livscyklar, trots taxonomiska olikheter. *Alternaria* producerar inga kända sexuella sporer utan utvecklar konidier, som är asexuella sporer, som formar kedjor som kan vara grenade eller ogrenade. Konidierna karaktäriseras av att vara relativt stora och har ofta mörkt pigmenterad cellvägg av melanin som även stärker cellväggarna och ger sporer skydd. Konidierna kan ha både longitudinella och transversella septa som skiljer cellerna åt och är oftast tjockast i botten och avsmalnade i den apikala ändan vilket ger sporer sitt karaktäriserande klubbliknande utseende. Svampen är en relativt svag växtpatogen som ofta angriper växter med nedsatt försvar som främst beror på försvagad vävnad på grund av faktorer som innefattar stress, åldrande eller direkt skada. *Alternaria* kan överleva länge i form av sporer eller mycel i dött växtmaterial eller som latent infektion i frön. Sporer sprids främst med vinden och orsakar infektion när de landar på en värdväxt. När sporer grov penetrerar groddslang stomata eller kutikula och växer in i växtvävnaden. Vid tillväxt av svampen efter primärinfektion kan det bildas mörk beläggning eller nekrotiska fläckar beroende på *Alternaria*-art (Figur 1) (Thomma 2003). *Alternaria* karaktäriseras även av att de ofta kan producera mykotoxiner (Patriarca et al. 2019).

Tidigare har släktet *Alternaria* delats in taxonomiskt baserat på morfologiska karaktärer som utgått från konidiernas form, färg, hur cellerna i en konidia är placerade och mönster på sporbildningen (Lawrence et al. 2015). Många småsporiga *Alternaria*-arter som vanligen infekterar livsmedel är svåra att fysiologiskt kategorisera eftersom de morfologiskt är lika (Patriarca et al. 2019). Det beror till stor del på att *Alternaria* inte har sexuella sporer och många arter uppvisar fenotypisk plasticitet, vilket kan leda till att tillväxt inom samma art skiljer sig åt och olika arter kan vara mer lika beroende på anpassningar till omgivningen (Dettman & Eggertson 2022). I och med nya analysmetoder för att kategorisera arter taxonomiskt som fylogenetisk och molekylär bestämning har man omdefinierat hur *Alternaria* delas in (Pinto & Patriarca 2017). I en nyare studie har *Alternaria* delats in i 27 sektioner som alternativ till arter eftersom det

framkom att många arter var genetiskt nära besläktade. I de nya sektionerna delas arter in baserat på taxonomiska och fysiologiska likheter (Woudenberg et al. 2013).

De *Alternaria*-arter som primärt infekterar spannmål är *A. alternata*, *A. arborescens*, *A. tenuissima* och *A. infectoria* (Andersen & Thrane; Samson et al. 2004). I den sektionsbaserade taxonomiska klassificeringen av *Alternaria*-arter ingår *A. alternata*, *A. arborescens* och *A. tenuissima* i sektion *Alternaria* och *A. Infectoria* ingår i sektion *Infectoriae*. Det innebär att de sektioner som främst infekterar spannmål är sektion *Infectoriae* och sektion *Alternaria* enligt det sektionsbaserade klassificeringssystemet (Woudenberg et al. 2015).



Figur 1. Livscykel för *Alternaria* i spannmål.

2.2 Sotdagg

Sotdagg är en vanligt förekommande växtsjukdom som orsakas av flera olika svampar inom divisionen Ascomycota, varav de flesta tillhör klassen Dothideomycota. Globalt sett är utbrott vanliga i tropiska, subtropiska och varma tempererade områden och kommer troligen bli vanligare i tempererade områden i och med global uppvärmning (Chomnunti et al. 2014). Vilka svampar som ingår i ett sjukdomsutbrott av sotdagg varierar mycket globalt och beror på faktorer som klimat, väder och värdväxt. Vid sjukdom bildas en mörk beläggning på den

angripna växtdelen eftersom de flesta svampar som orsakar sotdagg karakteriseras av konidier och hyfter som har cellväggar med det mörka pigmentet melanin. Beläggningen påverkar växten negativt genom att minska den fotosyntetiska förmågan samt i viss utsträckning minska gasutbytet. Svamparna är övervägande saprotrofa, vilket innebär att de lever på dött organiskt material. Vid infektion på en värdväxt lever de främst på honungsdagg som utsöndras från insekter inom ordningen homoptera (växtsugare) och olika ämnen som utsöndras från växten (Flessa et al. 2021).

I spannmål angrips oftast blad eller ax, och vanliga svampsläkten att orsaka sotdagg i spannmål är *Cladosporium*, *Alternaria* och *Cochliobolus*. Inom släktet *Alternaria* är det främst sektionerna *Alternaria* och *Infectoriae* som orsakar sotdagg i spannmål. Sporer sprids med vinden och infektion gynnas av hög luftfuktighet och regn i DC 71–87 (mjölkmoget-degmoget) (Ünal & Çakır u.å.). I en studie utförd i Iran gjord på vete- och kornkärnor drabbade av sotdagg där *Alternaria* isolerats var sektion *Infectoriae* vanligast förekommande (Poursafar et al. 2018). På engelska används termen ”black head” för att beskriva sotdagg på spannmål. Typiska symptom är svart beläggning på ax som ger en mörk färg samt mörka fläckar på bladen (Ünal & Çakır u.å.).

2.2.1 Black point

Alternaria kan även orsaka en ytterligare växtsjukdom i spannmål som på engelska heter ”black point”. Vid angrepp är det kärnorna som infekteras vilket resulterar i en mörknande färg, framför allt vid basen. Sjukdomen påverkar kärn- och grönkvaliteter och kan bidra till nedgradering av skördat spannmål (Ünal & Çakır u.å.). En studie utförd i Italien på vete- och kornkärnor som uppvisade symptom på ”black point” där *Alternaria* isolerades visade att majoriteten tillhörde sektionerna *Alternaria* och sektion *Infectoriae* (Masiello et al. 2020). En annan studie utförd på vete som uppvisade symptom av ”black point” i Kazakstan visade också att det främst är sektion *Alternaria* och sektion *Infectoriae* som orsakade sjukdomen (Turzhanova et al. 2020).

2.3 Mykotoxiner

Mykotoxiner är sekundära metaboliter som ofta är små och stabila molekyler som kan orsaka hälsoproblem för människor och djur vid konsumtion. De tillkommer till livsmedel och foder när jordbruksgrödor drabbas av svampsjukdomar som orsakas av svampsläkten som är mykotoxinproducerande. Globalt uppskattas att omkring 25% av livsmedel och foder innehåller mykotoxiner som vid konsumtion kan vara cancerogena, mutagena, teratologiska, hepatotoxiska, immunotoxiska, nefrotoxiska och neurotoxiska. Vid höga halter av mykotoxiner i foder finns risk att de även ackumuleras i animalieprodukter och eftersom de ofta är stabila

molekyler förstörs de inte av vanliga tillagningsprocesser. Mykotoxiner produceras främst av svampar inom släktena *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* och *Alternaria*. Faktorer som påverkar produktionen av mykotoxiner är värdväxtens mottaglighet, geografiskt plats och klimatbetingelser. Om den infekterade växten har ett nedsatt försvar på grund av stressfaktorer såsom brist på näringsämnen, vattenbrist, syrebrist eller angrepp av växtskadegörare ökar risken för att mer mykotoxiner produceras. Mykotoxiner kan produceras både i fält och vid lagring (Moretti et al. 2017).

Det är relativt vanligt att spannmålsgrödor får svampinfektioner, vilket dels beror på odlingsåtgärder som kort växtföljd och reducerad jordbearbetning, dels abiotiska faktorer som väder där de flesta svampar som infekterar spannmål gynnas av fuktigt och varmt klimat, särskilt vid blomning och skörd (Rózewicz et al. 2021). Efter skörd är det även vanligt att kärnor lagras länge, vilket kan leda till ökad risk för tillväxt av mykotoxinproducerande svampar (Felšöciová et al. 2021). Att spannmål är ett livsmedel med hög risk för mykotoxiner utgör en riskfaktor för världshälsan eftersom spannmål utgör majoriteten av energiintaget för stora delar av världens befolkning. Koncentrationen och diversiteten av mykotoxiner i spannmål beror dels på lagring, klimat och temperatur, dels på fysikaliska och kemiska egenskaper i kärnan såsom pH, kemisk sammansättning och vattenhalt (Khodaei et al. 2021).

2.3.1 *Alternaria*-toxiner

Det finns 70 kända mykotoxiner som produceras av svampar inom släktet *Alternaria*. Toxinerna kan vara värdspecifika, HST (Host specific toxin) eller icke-värdspecifika, nHSTs (non-host-specific toxin) och delas in i fem klasser baserat på kemiskt struktur. Klasser är: (1) dibenzopyranderivat som inkluderar, AOH (Alternariol), AME (Alternariol-monometyleter) och ALT (Altenuen), (2) tetramiksyra-derivat som inkluderar, TeA (Tenuazonsyra) och *iso*-TeA (*iso*-Tenuazonsyra), (3) med ursprung från perylen, som inkluderar ATX-I, ATX-II och ATX-III (Altertoxin I, II, and III), (4) *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*, som inkluderar AAL-, TA1-, TA2-, TB1- och TB2- toxiner (TA1, TA2, TB1 och TB2), (5) ett brett spektrum av olika kemiska strukturer, som inkluderar TEN (Tentoxin), *iso*-Ten (*iso*-Tenoxin) och DHT (Dihydrotenoxin) (Meena & Samal 2019).

En studie gjord på förekomsten av sekundära metaboliter producerade av sektion *Infectoria* respektive sektion *Alternaria* i argentinska livsmedel visade att sektion *Infectoria* inte producerade några av de vanliga *Alternaria*-toxinerna medan sektion *Alternaria* producerade mykotoxiner. De mest förekommande *Alternaria*-toxiner som sektion *Alternaria* producerade var AOH, AME, TeA, ALT, och TEN

(Patriarca et al. 2019). *Alternaria*-toxiner som kommer från perylen (klass 3) och omfattar toxinerna ATX-I, ATX-II och ATX-III visade sig produceras av både sektion *Alternaria* och sektion *Infectoriae* i en studie gjord på sekundära metaboliter producerade av småsporig *Alternaria* (Zwickel et al. 2018).

EFSA (European Food Safety Authority) utförde en utredning 2011 för att dels undersöka förekomsten av *Alternaria*-toxiner i livsmedel och foder, dels undersöka koncentrationerna av toxinerna för att bedöma hälsorisker för människor och djur vid konsumtion. Resultatet visade att AOH och AME var över TTC (threshold of toxicological concern) för livsmedel vilket visar på att toxinerna kan utgöra en hälsorisk för människor. För AOH och AME är TTC 2,5 ng/kg kroppsvikt och dag (EFSA 2011).

3. Material och metod

3.1 Litteratursökning

En litteratursökning gjordes genom att söka efter vetenskapliga artiklar på databaserna Google Scholar och Web of Science. Sökord som användes innefattade ”*Alternaria* toxins”, ”*Alternaria* cereal”, ”*Alternaria* taxonomy”, ”Mycotoxins” ”Sooty Mould (Mold)”, ”Black point”. I litteratursammanställningen inkluderades även artiklar som rekommenderats från handledare och biträdande handledare.

3.2 Insamling av växtmaterial

Vid spannmålsmottagningen i september 2023 samlade medlemsföretag i branchorganisationen Foder och Spannmål in prover på ca 1,5 kg för att representera partier som var kraftigt drabbade av sotdagg. Proverna skickades till SVA där 100 kärnor från varje prov togs ut och förvarades i frys (-20°C) för senare mykologisk analys. Proverna kom från olika spannmålsgrödor (vete, korn och havre) från olika delar av syd- och mellansverige.

3.3 Bedömning av *Alternaria*-infektion

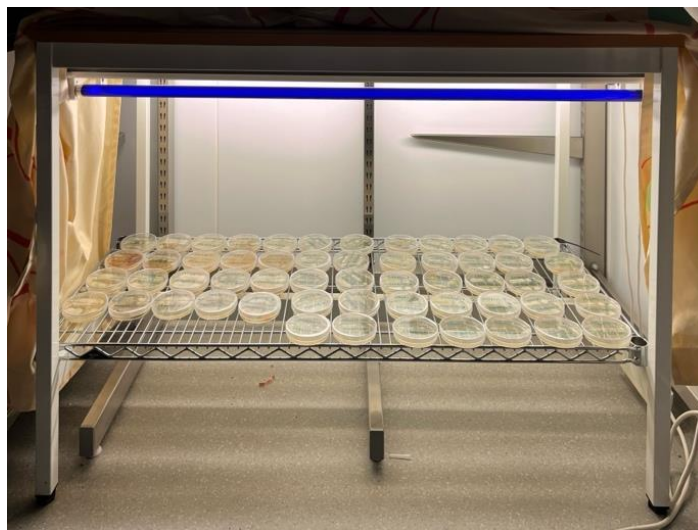
Samtliga spannmålsprover delades upp, och en del maldes till mjöl för toxinanalys och en del sparades som kärnor för taxonomisk bestämning. Från varje insamlat spannmålsprov användes kärnproverna för att undersöka infektionsgraden av *Alternaria* samt att sektionbestämma isolat. För att undersöka om mjölprover kan användas för taxonomisk bestämning och jämföra skillnader mellan mjölprover med kärnprover i svamptillväxt och sammansättning av svampsläkten valdes fyra mjölprover ut slumpmässigt.

3.3.1 Infektionsgrad av *Alternaria*

Kärnprov

Från varje prov valdes 50 kärnor ut slumpmässigt och ytsteriliserades för att ta bort eventuella svampsporer på utsidan av kärnorna men som ej infekterat insidan av kärnorna. Först sköljdes kärnorna i vatten och för att ytsteriliseras rörde kärnorna runt i natriumhypoklorit (0,4% tillgängligt klor) i 2 minuter. Per petriskål placerades 10 kärnor ut jämnt fördelat på DCMA (Dichloran chloramphenicol maltagarpetriskålar; maltextrakt 10 g, dichloran 2 mg, chloramphenicol 0,1 g, agar 12 g, destillerat vatten 1 l). Agarplattorna med kärnor inkuberades sedan under ljusrör med vitt ljus respektive UV-ljus som var påslagna

under 8 timmar per dygn och avstängda 16 timmar per dygn i 25°C under 5–8 dagar (Figur 2).



Figur 2. Exempel på plattor som inkuberas i ljuscykel med 8 timmars ljus och 16 timmar mörker per dygn.

Kärnorna undersöktes i stereolupp och antalet kärnor med *Alternaria*-tillväxt bestämdes genom morfologisk karaktärisering. Kärnor med *Alternaria*-tillväxt uppvisade karakteristisk spormorfologi med svarta konidier som formar kedjor, med eller utan förgreningar (Figur 3), (Figur 4), (Figur 5), (Figur 6).



Figur 3. Exempel på agarplatta där kornkärnor har placerats på DCMA och inkuberats under ljus (8 h ljus/16 h mörker) i 25°C i 6–7 dagar. Prov 15.



Figur 4. Exempel på agarplatta där vetekärnor har placerats på DCMA och inkuberats under ljus (8 h ljus/ 16 h mörker) i 25°C i 5–7 dagar. Prov 13.



Figur 5. Exempel på *Alternaria*-konidier som växer på en kornkärna (svart på kärnan).



Figur 6. Exempel på *Alternaria*-konidier som växer på en vetekärna (svart på kärnan).

Mjölprov

Från fyra insamlade spannmålsprover där kärnorna malts till mjöl vägdes 10 g mjöl upp vardera och homogeniserades med 90 g peptonvatten (0,1%) med en Stomacher® 400 under 1 minut. Suspensionen fick koncentration 10^{-1} g/ml mjölprov:peptonvatten och en spädningsserie utfördes till koncentrationen $1 \cdot 10^{-5}$ g/ml. Från varje koncentration och spannmålsprov tillfördes 0,1 ml suspension till totalt 20 petriskålar med DCMA. Suspensionen racklades ut jämt över petriskålen och inkuberades sedan under ljus (8 h ljus/16 mörker) i 25°C under 7 dagar. Från varje platta observerades antalet kolonier av *Alternaria* samt eventuella övrig svamptillväxt (Figur 7), (Figur 8). Baserat på antalet kolonier räknades mängden *Alternaria*-sporer i växtprovet enligt ekvation (1).

Koncentrationen av sporer ges av

$$y = \frac{\sum C_n}{\sum W_n} \quad (1)$$

Där y är sporkoncentrationen uttryckt i antal sporer/massa prov [antal/g], C_n är antalet kolonier per petriskål [antal] och W_n är den korresponderande provvolymen uttryckt i massa prov/volym [g/ml] spädningsmedium.



Figur 7. Exempel på agarplatta med mjölprov. Prov 10 med spädning $(1 \cdot 10)^{-3}$ g/l som växt på DCMA. Observerbara kolonier av *Alternaria* (grå) och *Cladosporium* (svarta) samt oidentifierade vita kolonier.



Figur 8. Exempel på agarplatta med mjölprov. Prov 19 med spädning $(1 \cdot 10)^{-3}$ g/l som växt på DCMA. Observerbara kolonier av *Alternaria* (grå) och *Cladosporium* (svarta) samt oidentifierade vita och gula kolonier.

3.3.2 Isolering av *Alternaria*-kolonier

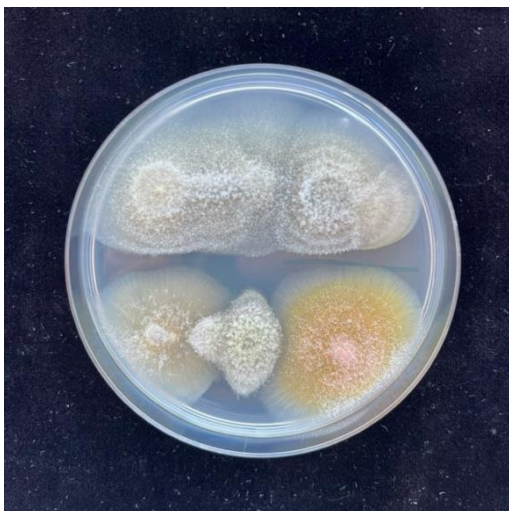
Kärnprov

Totalt 10 kärnor med tillväxt av *Alternaria* per prov valdes ut slumpmässigt. Sporer och mycel ympades över med en ympnål och streck- och punktiokulerades på DCMA. Agarplattorna med de ympade isolaten inkuberades i 25°C (8 h ljus/16 mörker) under 6–8 dagar (Figur 9), (Figur 10).

Från varje prov användes en ympnål för att punktinokulera en *Alternaria*-koloni till DCMA och DRYES (Dichloran Rose bengal Yeast Extract Sucrose agar; jästextrakt 20 g, Sackaros 150 g, Dichloran 2 mg, Rose bengal 25 mg, Chloramphenicol 0,1 g, agar 20 g, avjoniserat vatten 1 l) (DRYES; Pitt & Hocking 1997). DCMA plattorna inkuberades i 25°C (8 h ljus/16 mörker) och DRYES plattorna i 25°C (mörker) under 6–8 dagar.

Mjölprov

Från fem kolonier av *Alternaria* per prov ympades sporer och mycel över med en steril ympnål och dubbelpunktiokulerades till DCMA och DRYES. Om det fanns mindre än fem kolonier av *Alternaria* isolerades alla som fanns. Agarplattorna med de ympade isolaten inkuberades i ljus (8 h ljus/16 mörker) för DCMA eller mörk för DRYES i 25°C under 6–8 dagar.



Figur 9. Exempel på agarplatta med isolat från kärnprov som punkt- och streckinokulerats till DCMA. Prov 6. Observerbara kolonier av *Alternaria* (grå) och oidentifierade kolonier (brun och gul).



Figur 10. Exempel på agarplatta med isolat från kärnprov som punkt- och streckinokulerats till DCMA. Prov 23. Observerbara kolonier av *Alternaria* (grå) och oidentifierade kolonier (röd och gul).

3.3.3 Identifiering av *Alternaria* till sektion

För varje spannmålsprov och koloni av kärnprov och mjölprov observerades färgen på kolonin på DRYES där vit innebär att det är sektion *Infectoriae* och koloni med mörk och gråaktig färg innebär att det är sektion *Alternaria* (Figur 14), (Figur 13), (Figur 11), (Figur 12) (Samson et al. 2010). Kolonierna som växt på DCMA undersöktes i stereolupp med transmitterande ljus (ljuskälla underifrån) för att fastställa att det var en *Alternaria*-koloni genom morfologisk bestämning av sporer. Varje koloni som blev mörk på DRYES undersöktes även i mikroskop genom att ta tejprover från korresponderande koloni som växt på DCMA för att bekräfta att det var sektion *Alternaria*. Ett urval av de kolonier som blivit vita på DRYES undersöktes även i mikroskop för att säkra att det är sektion *Infectoriae*. (Figur 15), (Figur 16).

I mikroskop söktes efter spormönster, tillväxtmönster och konidier som är karakteristiska för respektive sektion av *Alternaria* för att bekräfta färgen att på DRYES stämde som identifiering av sektion. Både närvaron och avsaknaden av typiska mönster från respektive sektion användes för bedömning. Sektion *Infectoriae* särskiljer sig genom att konidier kan växa från en böj i mycelet samt har ett tillväxtmönster som grenar sig i v-liknande mönster. Det kan även finnas långa band med omogna konidier (Figur 15). För sektion *Alternaria* varierar tillväxtmönstret mellan olika arter inom sektionen. Vissa arter särskiljer sig

genom ett kompakt tillväxtmönster där förgreningar av konidier ser ut som buskar. Andra arter särskiljer sig genom långa pärlliknande band av fullt utvecklade konidier (Simmons 2007 se Samson et al. 2010).



Figur 14. Exempel på agarplatta med isolat som punktinokulerats från en Alternaria-koloni som odlats på DCMA från kärnprov. Prov 10 som växt på DCMA, observerbara kolonier av sektion Infectoriae (grå).



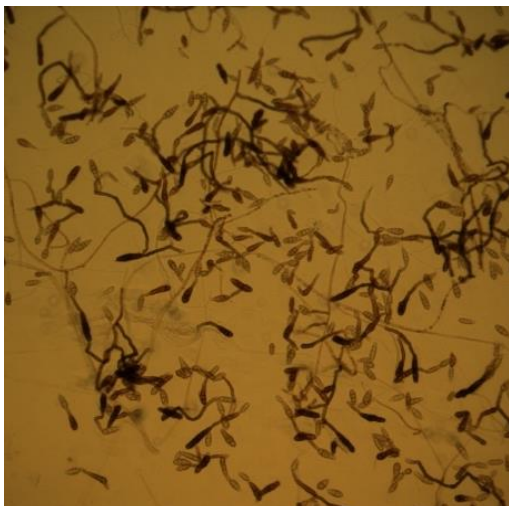
Figur 13. Exempel på agarplatta med isolat som punktinokulerats från en Alternaria-koloni som odlats på DCMA från kärnprov. Prov 19 som växt på DRYES, observerbara kolonier av sektion Infectoriae (vit).



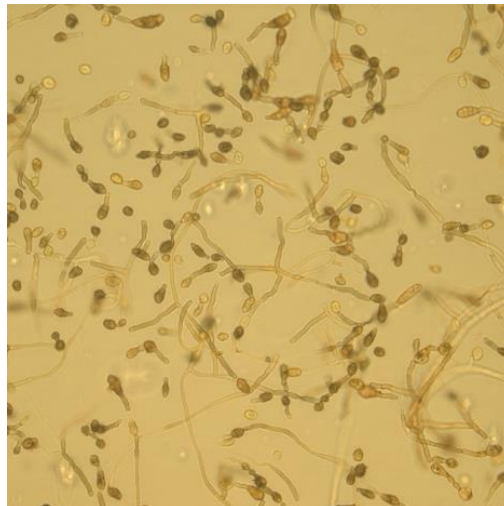
Figur 11. Exempel på agarplatta med isolat som punktinokulerats från en Alternaria-koloni som odlats på DCMA från kärnprov. Prov 12 som växt på DCMA, observerbara kolonier av sektion Infectoriae (överst) och sektion Alternaria (under).



Figur 12. Exempel på agarplatta med isolat som punktinokulerats från en Alternaria-koloni som odlats på DCMA från kärnprov. Prov 12 som växt på DRYES, observerbara kolonier av sektion Infectoriae (vit) och sektion Alternaria (brun).



Figur 15. Exempel på sporer från sektion Infectoriae i mikroskop från en Alternaria-koloni som växt på DCMA.



Figur 16. Exempel på sporer från sektion Alternaria i mikroskop från en Alternaria-koloni som växt på DCMA.

3.4 Toxinanalys

Totalt 25 insamlade växtprover och tre blanka prover (prover utan tydligt angrepp av sotdagg) analyserades på Cranfield University av Andrea Patriarca för närvaro av 6 *Alternaria*-toxiner (AOH, AME, TeA, ALT, ATX-I, TEN). Metoden som användes för att analysera närvaron av toxiner var en optimering av en metod som utvecklats av Walravens et al. (2014) och Sulyok et al. (2020).

Proverna homogeniserades och 2,500 g ($\pm 0,0025$) av varje prov vägdes upp och extraherades med 12,5 ml av acetonitril:vatten:ättiksyra (79:19.5:1.5, v/v/v) i 60 min. Blandningen centrifugerades sedan ($3000 \times g$, 10 min) och filtrerades genom Whatman-papper 2V. Extraktionerna avfettades två gånger med 5 ml hexan och 4 ml av vattenfasen överfördes till ett rör och torkades med en ström av kvävetorkande gas i 40°C. Det av proverna som var kvar efter torkning löstes sedan upp i 200 µl av mobil faserna A:B (70:30, v/v) och virvlades kraftigt samt centrifugerades på 13,000 rpm under 15 min. Från varje prov togs 100 µl och fördes över till en HPLC-flaska och förvarades i -20°C till vidare analys.

Standardiserad isotopmärkning U-[$^{13}\text{C}_{10}$]-Tenuazonsyra och U-[$^{13}\text{C}_{14}$]-Alternariol användes i syfte att kvantifiera analysen. Linjära samband fastställdes genom att använda MMC-kurvor (matrismatchad kalibrering) samt använda blanka prover på 6 olika koncentrationer (0,25-50 µg/kg) för de tre olika spannmålsslagens matriser. Gränsvärdena för LOD (Limits of detection) och LOQ (Limits of

quantification) fastställdes genom att använda MMC-kurvorna på 5 olika koncentrationer för varje undersökt matris.

Proverna analyserades med UHPLC-MS/MS (högpresterande vätskekromatograf-tandemmasspektrometri) i ett qTRAP-LCMS 6500+ system (Exion Series) som var kopplat med IonDrive™ Turbo Spray (båda Sciex Technologies, Warrington, UK). Datainsamling utfördes med Analyst® version 1.6.3 och kvantifiering utfördes genom att använda MultiQuant™ v. 3.0.3. Kromatografiseparation uppnåddes genom att använda en Waters HSS 2,1 × 100mm, 1,8μ C18 kolumn. Kolumn-och autsamplertemperatur var 40°C respektive 15°C. Den mobila fasen utgjordes av A (vatten:1% ättiksyra, 99:1, v/v), och B (acetonitril:1% ättiksyra, 99:1, v/v). Flödes hastigheten var 0,4 ml/min och elueringsgradienten var 5% B under 0,5 min och ökades till 30% B under 1 min och ökades sedan linjärt till 35% B under 1–4 min. 80% B uppnåddes efter 4–6 min och upprätthölls tills 6,6 min och 100% B uppnåddes mellan 6,6–7 min. En isokratisk fas av 100% B upprätthölls under 9 min och sedan uppstod åter jämvikt i kolumnen vilket resulterade i en tid på totalt 12 min. Injektionsvolymen var 5 μl.

ESI-MS/MS (elektrosprejjonisering-tandemmasspektrometri) utfördes i multipel reaktionsövervakningsläge (sMRM) i både positiv och negativ polaritet. MS/MS instrumentella parametrar optimerades genom direkt infusion av stämningsvätska (10 ng/μl) för varje analyt som var upplöst i metanol/ultrarent vatten (50/50; v/v, 0,1% myrsyra). MRM-övergångar, den optimala konspänningen och vald kollisionseenergi för varje övergång samt retentionstiden (Rt) för varje toxin presenteras i (Tabell 1). Den första övergången som korresponderar till den jonen som var mest förekommande användes för att kvantifiera analysen och den näst med förekommande jonen användes för att konfirmera analysen. Inställningarna för ESI var; källtemperatur 300°C, gardingasen (CUR) 35 psi, mantelgas (gas med högladdade droppar) 40 psi, nebuliserande gas 60 psi, jonspray med spänningen ±4500 V.

Tabell 1. Optimerade LC-MS/MS instrumentella parametrar för *Alternaria*-toxiner och förhållandet mellan massa och laddning (m/z) för 6 toxiner (AOH, AME, TeA, ALT, ATX-I, TEN). De optimerade parametrarna utgörs av Rt (Retention time), DP (Declustering potential), EP (Entrance Potential), CE (Collision Energy) och CXP (Collision cell exit potential). Standardiserad isotopmärkning för U- $[^{13}\text{C}_{10}]$ -Tenuazonsyra och U- $[^{13}\text{C}_{14}]$ -Alternariol.

Toxin	Föregångsjon (m/z)	Produktjon (m/z)	DP	EP	CE	CXP	Rt (min)
AOH	256,8	212,3	-110	-10	-32	-21	4,84
	256,8	214,7	-110	-10	-36	-36	4,84
AME	271,0	256,0	-10	-10	-25	-10	6,27
	271,0	227,8	-14	-10	-35	-10	6,27
TeA	195,7	138,7	-150	-10	-26	-15	4,33
	195,7	111,7	-150	-10	-32	-13	4,33
ALT	293,0	256,9	46	10	23	28	3,61
	293,0	275,0	46	10	11	16	3,61
ATX-I	350,8	314,7	-125	-10	-22	-31	4,68
	350,8	296,7	-125	-10	-36	-45	4,68
TEN	412,9	140,8	-115	-10	-26	-17	5,48
	412,9	270,8	-115	-10	-22	-13	5,48
$^{13}\text{C}_{10}$ -Tenuazonsyra	205,8	144,7	-100	-10	-28	-15	4,33
$^{13}\text{C}_{14}$ -Alternariol	270,8	225,5	-140	-10	-32	-25	4,83

3.5 Dataanalys

Undersökningen av infektionsgrad av *Alternaria*, identifiering av *Alternaria* till sektion och koncentrationen av *Alternaria*-toxiner var obalanserad i sin design eftersom spannmålsproverna valdes ut från partier som uppvisade kraftiga symptom av sotdagg. Spannmålsproverna som undersöktes var därför högriskprover och inte slumpmässigt utvalda vilket innebär att designen begränsar möjligheten att utföra statistiska analyser på insamlad data. Från insamlade data undersöktes trender och samband mellan *Alternaria*-toxiner, *Alternaria*-förekomst, *Alternaria*-sektion samt skillnader mellan mjöl- och kärnprov.

4. Resultat

4.1 *Alternaria* och *Alternaria*-toxiner i svensk spannmål

Tabell 2. *Alternaria*-förekomst uttryckt i procent för 25 insamlade spannmålsprover, antalet isolerade kolonier som bestämdes till sektion *Alternaria* respektive sektion *Infectoriae*. (–) innebär 0 observerade *Alternaria*-kolonier. Koncentrationen ($\mu\text{g/kg}$) av 6 *Alternaria*-toxiner som produceras av sektion *Alternaria* (AOH, AME, TeA, ALT, ATX-I, TEN) och sektion *Infectoriae* (ATX-I). Toxinkoncentrationen visar medelvärdet av 3 tekniska replikat för varje prov. (*) innebär ett värde mellan LOD och LOQ (Tabell 4).

Prov nr.	Spannmåls-sort	Kärnor med <i>Alternaria</i> spp.	Isolerade kolonier <i>Alternaria</i>	Isolerade kolonier <i>Infectoriae</i>	AOH [$\mu\text{g/kg}$]	AME [$\mu\text{g/kg}$]	TeA [$\mu\text{g/kg}$]	ALT [$\mu\text{g/kg}$]	ATX-I [$\mu\text{g/kg}$]	TEN [$\mu\text{g/kg}$]
1	Vete	80%	–	8/8	42,9	<LOD	<LOD	<LOD	1,4	<LOD
2	Korn	52%	1/6	5/6	2,4	<LOD	7,6	<LOD	0,1*	<LOQ
3	Havre	100%	1/5	4/5	137,3	27,2	0,2*	<LOD	9,0	9,9
4	Havre	86%	–	4/4	25,8	6,6	<LOD	<LOD	0,6*	1,8
5	Korn	34%	–	7/7	19,1	0,6	3,7	<LOD	0,8	<LOD
6	Havre	100%	2/9	7/9	369,5	75,6	83,9	<LOD	29,0	23,1
7	Korn	10%	–	–	2,8	<LOD	6,5	<LOD	<LOD	<LOD
8	Havre	98%	–	6/6	43,5	8,6	<LOD	<LOD	0,8	<LOD
9	Havre	94%	–	7/7	8,4	3,6	<LOD	<LOD	3,3	<LOD
10	Havre	90%	–	7/7	47,5	5,3	<LOD	<LOD	4,5	<LOD
11	Havre	98%	–	3/3	17,3	5,6	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
12	Havre	100%	1/8	7/8	50,1	12,8	<LOD	<LOD	19,2	<LOD
13	Vete	96%	–	8/8	2,9	<LOD	<LOD	<LOD	1,3	<LOD
14	Korn	66%	–	8/8	2,1	<LOD	4,0	<LOD	0,6*	<LOD
15	Korn	72%	–	7/7	12,4	0,5	2,9	<LOD	0,9	<LOD
16	Korn	42%	–	4/4	14,5	<LOD	<LOD	<LOD	0,1*	<LOD
17	Korn	34%	–	6/6	8,0	<LOD	<LOD	<LOD	0,9	<LOD
18	Korn	96%	–	4/4	75,6	0,4*	68,1	<LOD	1,1	0,4
19	Korn	98%	–	6/6	100,5	6,6	10,5	<LOD	0,5*	<LOD
20	Korn	92%	–	5/5	76,2	0,8	2,5	<LOD	1,1	<LOD
21	Korn	22%	–	7/7	13,0	<LOD	2,4	<LOD	0,4*	0,2
22	Havre	92%	–	–	34,0	2,8	22,3	<LOD	5,0	13,7
23	Vete	90%	–	10/10	6,7	<LOD	0,8	<LOD	1,5	0,8
24	Korn	94%	–	6/6	51,6	<LOD	<LOD	<LOD	0,9	0,5
25	Korn	60%	1/7	6/7	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,5*	<LOD

4.2 Förekomst och sammansättning av *Alternaria* i svensk spannmål

4.2.1 Kärnprover

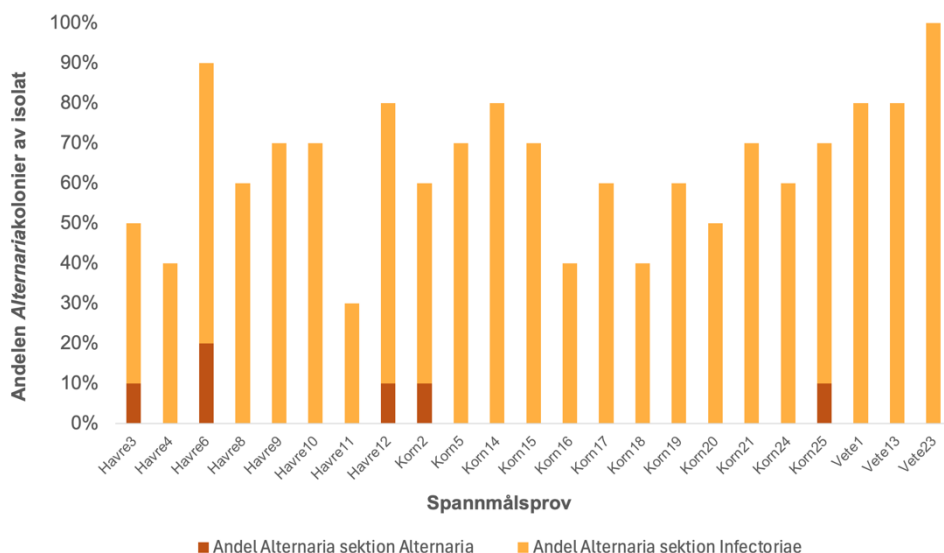
Förekomst av Alternaria

Från samtliga kärnor som inkuberats på DCMA observerades svamptillväxt. *Alternaria*-förekomsten varierades mellan 10%–100% där samtliga spannmålsprover med 100% förekomst kom från havre (prov 3, 6, 12). De 9 spannmålsproverna med lägst infektionsgrad av *Alternaria* kom från korn (prov 7, 21, 5, 17, 16, 2, 25, 14, 15) (Tabell 2). I de prover med lägst förekomst av *Alternaria* observerades ofta kraftig svamptillväxt av andra svampar. På majoriteten av kärnorna observerades tillväxt av minst två olika svampar varav det ibland förekom snabbväxande svampar som växte över flera kärnor på agarplattan. Förekomsten av *Alternaria* baserades på morfologisk karaktärisering där mörka konidierna formar kedjor, med eller utan förgreningar. Tillväxtmönstret och hur cellerna är organiserade i konidierna varierar mellan olika arter av *Alternaria*. På kärnorna observerades främst sektion *Infectoriae* och från sektion *Alternaria* observerades typiska spormönster och tillväxtmönster av arterna *A. tenuissima* och *A. alternata*.

Sammansättning av Alternaria

Från 10 kärnor per spannmålsprov som inkuberats på DCMA isolerades sporer och mycel och inkuberades på ytterligare en gång på DCMA. Efter första isoleringen av sporer och mycel av *Alternaria* observerades kolonier av flera olika svampar på majoriteten av agarplattorna, där *Alternaria* ibland var en av de observerade kolonierna (Figur 9), (Figur 10). På somliga av isolaten observerades inga *Alternaria*-kolonier efter isoleringen från kärna och på en del av isolaten observerades enbart *Alternaria*-tillväxt. Efter andra isoleringen där sporer och mycel av *Alternaria* omympats på DCMA och DRYES från första ympningen från kärnor observerades i vissa fall tillväxt av andra svampar. Andelen kolonier i sista isoleringen som var *Alternaria* respektive andra svampar varierade mellan proverna, mellan 0–10 *Alternaria*-kolonier/spannmålsprov. Att en svampkoloni på isolat som växt på DCMA var *Alternaria* fastställdes genom bestämning av karaktäristisk spormorfologi i sterolupp. I en del av isolaten var kolonitillväxten och mycelet karaktäristiska för *Alternaria* men det hade inte sporulerat vilket medförde att det inte gick att bekräfta att dessa isolat var *Alternaria* eller fastställa *Alternaria*-sektion. Andelen av isolat som bekräftades vara *Alternaria* varierade stort mellan olika prover och spannmålsslag (Figur 17).

Från fem spannmålsprov isolerades kolonier av sektion *Alternaria* (prov 3, 12, 2, 25) varav ett prov hade två kolonier av sektion *Alternaria* (prov 6). Majoriteten av *Alternaria*-isolaten tillhörde sektion *Infectoriae* (Figur 17).



Figur 17. Andelen av isolat som bestämdes till *Alternaria* efter att sporer och mycel av *Alternaria* isolerats i två steg från kärnor och inkuberats på DCMA (hela stapeln). Andelen av *Alternaria*-kolonier som var *Alternaria* sektion *Alternaria* (röd) och *Alternaria* sektion *Infectoriae* (orange) efter inkubering på DCMA och DRYES i andra isoleringen. Identifiering av *Alternaria*-sektion genom morfologisk bestämning i sterolupp och mikroskop samt kolonifärg på DRYES. I prov 7 och 22 bestämdes inga av isolaten till *Alternaria*.

4.2.2 Mjölprover

I fyra slumpmässigt utvalda spannmålsprover som malts till mjöl observerades *Alternaria*-kolonier efter inkubation på DCMA med en variation på 2–5 *Alternaria*-kolonier per prov. På samtliga prover fanns kolonier av sektion *Infectoriae*, medan kolonier av sektion *Alternaria* observerades på två prover (prov 10, 18). Antalet *Alternaria*-sporer per massa mjölprov varierade mellan 27,3–2000 sporer per gram där prov 8 hade lägst antal och prov 18 hade högst antal (Tabell 3).

Tabell 3. Antalet kolonier av sektion *Alternaria* respektive sektion *Infectoriae* samt *Alternaria*-sporer per massa mjölprov för fyra slumpässigt utvalda spannmålsprov som malts till mjöl. Av proverna var två havre (prov 8, 10) och 2 var korn (prov 18, 19).

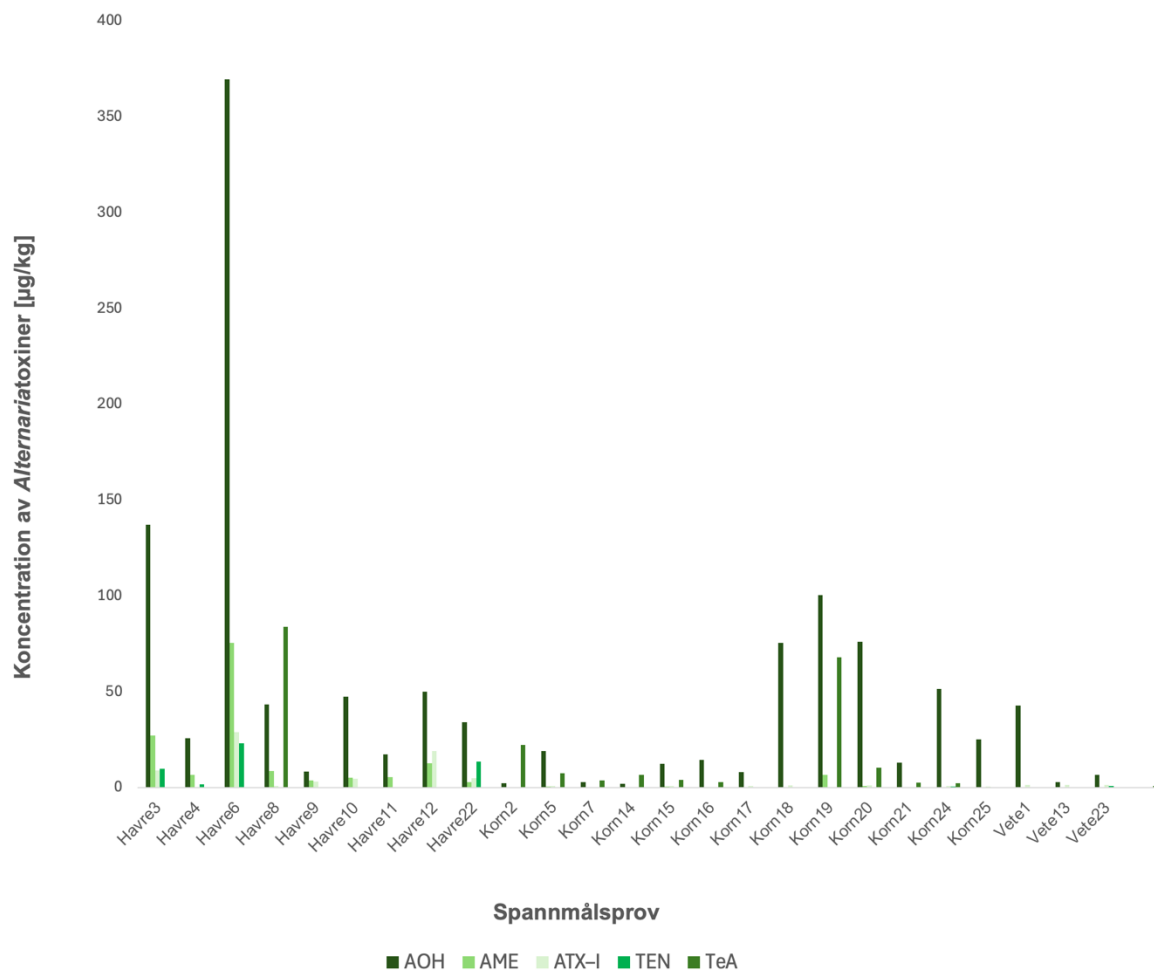
Prov nr.	Spannmålsslag	Antal kolonier <i>Alternaria</i>	Antal kolonier <i>Infectoriae</i>	<i>Alternaria</i> -sporer per massa mjölprov [antal/g]
8	Havre	–	2/2	27,3
10	Havre	1/4	3/4	545
18	Korn	1/2	1/2	2000
19	Korn	–	5/5	1090

4.3 *Alternaria*-toxiner i svensk spannmål

Tabell 4. Limits of detection (LOD) och limits of quantification (LOQ) för *Alternaria*-toxiner (AOH, AME, TeA, ALT, ATX-I och TEN) och för varje spannmålsslag (havre, korn och vete).

		AOH	AME	TeA	ALT	ATX-I	TEN
Vete	LOD	0,3	0,3	0,1	2,5	0,2	0,1
	LOQ	0,8	0,8	0,4	0,4	0,6	0,4
Havre	LOD	0,3	0,3	0,1	2,5	0,3	0,3
	LOQ	0,8	0,8	0,4	7,5	0,8	0,8
Korn	LOD	0,3	0,2	0,1	1,3	0,3	0,1
	LOQ	0,8	0,5	0,4	3,8	0,8	0,2

Koncentrationerna av de olika *Alternaria*-toxiner varierade inom de olika spannmålsslagen och generellt hade havre högst koncentrationer av de flesta toxiner och vete hade lägst koncentrationer. Prov 6 hade överlägset högst koncentration av samtliga mätbara toxiner. AOH var det mest förekommande *Alternaria*-toxinet och förekom i olika koncentrationer i 24 av spannmålsproverna, enbart ett kornprov fick värde under LOD (prov 25). Proverna med högst koncentrationen av AOH var båda havre (prov 6, 3) där ett prov (prov 6) hade över dubbelt så hög koncentration som det provet med näst högst koncentration (prov 3). De fem proverna med högst koncentration av AME var havre (prov 6, 3, 12, 8, 4). Det provet med högst koncentration av TeA kom från havre (prov 6) och det prover med näst högst koncentration av TeA från korn (prov 18). I inget av spannmålsproverna uppmättes koncentrationer över LOD för ALT. De fem prover med högst koncentration av ATX-I kom från havre (prov 6, 12, 3, 22, 10). De fyra proverna med högst koncentration av TEN kom från havre (prov 6, 22, 3, 4) (Figur 18).



Figur 18. Koncentration av fem Alternaria-toxiner (AOH, AME, ATX-I, TEN, TeA) i de 25 spannmålsproverna. Koncentrationer under LOD och LOQ eller ett värde mellan LOD och LOQ visas inte i diagrammet.

5. Diskussion

5.1 Förekomst och sammansättning av *Alternaria*

5.1.1 Förekomst av *Alternaria*

Syftet med undersökningen var att undersöka infektionsgraden av *Alternaria* i sotdaggsinfekterad svensk spannmål. För kärnproverna visar resultatet på en infektionsgrad mellan 10–100% med en median på 90%. Eftersom spannmålsproverna kom från partier med tecken på sotdagg är en hög infektionsgrad ett väntat resultat. I proverna med låg infektionsgrad var det ofta andra svampar som dominerade vilket kan betyda att kärnan egentligen var infekterad av *Alternaria* som inte växte under inkuberingen på agar på grund av att den blivit utkonkurrerad av annan tillväxt. Det kan innebära att många prover egentligen hade en högre infektionsgrad av *Alternaria* än resultaten visar. Sotdagg orsakas av ett komplex av olika svampar vilket innebär att det är rimligt att det även blev tillväxt av andra svampar. Proverna med hög förekomst av *Alternaria* hade ofta även höga koncentrationer av toxiner, vilket var väntat.

Mjölproverna visade en variation på mellan 27 och 2000 sporer/g prov. Samma prover (prov 8 och 18) gav en infektionsgrad på 98% respektive 96% i kärnproverna. Förekomsten är inte helt jämförbar mellan mjöl- och kärnprover eftersom förekomsten mäts på olika sätt men en så stor variation kan ge en indikation på att mjölproverna inte gav ett representerande resultat. Mjölprover kan inte ytsteriliseras vilket är en stor skillnad i metod eftersom den processen tar bort eventuella svampsporer på utsidan av kärnorna men som ej infekterat insidan av kärnorna. Det gör att det finns högre risk för tillväxt av svampar som inte är relevanta för toxinrisk vid analys av mjölprover jämfört med kärnprover.

5.1.2 Sammansättning av *Alternaria*

I samtliga kärnprover tillhörde majoriteten av de isolerade kolonierna sektion *Infectoriae*. Totalt fem prover hade efter isolering kolonier av sektion *Alternaria*. Av dem var det enbart ett prov (prov 6) som hade två kolonier av sektion *Alternaria* och det var även det provet som innehöll högst koncentration av alla mätbara toxiner. Sektion *Alternaria* producerar samtliga av de undersökta toxinerna, vilket innebär att den relativt höga procenten (29%) av sektion *Alternaria* av isolaten korrelerar med toxinkoncentrationerna. En studie gjord på *Alternaria* i vete i Turkiet visade en högre förekomst av sektion *Alternaria* än sektion *Infectoriae*. Studien gjorde med snarlik metod av kärnor och blad som uppvisade symptom på sotdagg (Ünal & Çakır u.å.). I en studie utförd i Norge på förekomst av *Alternaria* på spannmål visade resultaten att sektion *Infectoriae*

också var den mest förekommande och sektion *Alternaria* den näst mest förekommande (Kosiak et al. 2004).

I mjölproverna var andelen kolonier av sektion *Alternaria* 0%, 0%, 25% och 50% (prov 8, 19, 10, 18). På grund av få *Alternaria*-kolonier per prov kan resultaten vara missvisande och inte representativa för den faktiska fördelningen av respektive sektion. För samma prover som analyserades som kärnprov (prov 8, 19, 10, 18) var andelen av sektion *Alternaria* 0%. Skillnaderna kan bero slumpmässiga orsaker eller visa på en skillnad i analys av mjöl- och kärnprover. I ett mjölprov går det att variera spädningen vilket ger upphov till olika mängd sporer per agarplatta. Det innebär att varje spor kan vara utsatt för en lägre konkurrens med andra mikroorganismer än på ett kärnprov som oftast enbart ytsteriliserar. Den större andelen av sektion *Alternaria* i mjölproverna kan därför bero på en lägre konkurrenskraft hos den sektionen jämfört med sektion *Infectoria*. Variationen av sektionsförekomst kan även bero på hur mycel av *Alternaria* överlever i spannmålsprover som är malda till mjöl jämfört med spannmålsprover som förvaras som kärnor. När proverna mals till mjöl sönderdelas mycelet till kortare bitar och om sektion *Infectoria* överlever sämre efter malning kan det vara en förklaring till den lägre förekomsten av den sektionen i mjölproverna jämfört med kärnprover.

5.2 Förekomst av *Alternaria*-toxiner

Resultatet av toxinanalysen visade att fem *Alternaria*-toxiner fanns i olika koncentrationer i de flesta av spannmålsproverna (Tabell 2). Koncentrationen av respektive mykotoxin varierade relativt mycket mellan de olika spannmålsproverna. I en studie gjord på koncentrationen av fyra *Alternaria*-toxiner (TeA, AOH, AME, ALT) på durumvete som uppvisade symptom på ”black point” i Italien var koncentrationsspannet för respektive toxin jämförbart med resultaten från toxinanalysen på spannmålsproverna. I den undersökningen var också ALT under LOD för majoriteten av proverna (Masiello et al. 2020).

Eftersom resultaten visar förekomst av fem *Alternaria*-toxiner och EU har en rekommendation om att övervaka halten toxin visar resultaten stöd för fortsatt utredning av *Alternaria* i Sverige. Vid toxinanalysen användes mjöl av oskalade spannmålsprover vilket motsvarar ett fullkornsmjöl. Majoriteten av mykotoxinerna som riskeras att produceras vid ett angrepp återfinns i de yttre delarna av kärnan och skalet. Det innebär att spannmålsprodukter där de yttre delarna av kärnan har tagits bort kommer innehålla lägre koncentrationer av *Alternaria*-toxiner än vad toxinanalysen visade (Janić Hajnal et al. 2019). I Sverige är ca 25% av spannmålsintaget fullkornsprodukter, vilket innebär att en majoritet av livsmedel från spannmål har en lägre risk för mykotoxiner

(Livsmedelsverket 2025). Enligt EFSA är TTC för AOH och AME 2,5 ng/kg kroppsvikt och dag (EFSA 2011). För AOH var medelvärdet på koncentrationen 50 µg/kg och för AME 6,5 µg/kg (Tabell 2). Enligt Jordbruksverket äter en person i Sverige ca 63 kg spannmål per år och enligt SCB är medelvikten 76 kg (Jordbruksverket 2022) (SCB 2018). Om det är en fullkornsprodukt ger det en konsumtion av AOH på ca 115 ng/kg kroppsvikt och dag och AME 15,0 ng/kg kroppsvikt och dag, vilket är långt över TTC för både AOH och AME. Exponeringen av toxiner är beräknad på högriskprover av spannmål, men det ger en indikation på att det finns hälsorisker vid konsumtion av infekterat spannmål. Eftersom halten av AOH och AME var nästan 50 respektive 6 gånger högre än TTC innebär det att en slutlig fullkornsprodukt som är utblandad med friskt spannmål kan innehålla koncentrationer över TTC. Eftersom koncentrationerna av respektive toxin varierade mycket ger inte ett medelvärde en representativ bild av förekomsten av *Alternaria*-toxiner i enskilda spannmålspartier. På grund av att spannmål ofta blandas i senare produktionssteg kan ett medelvärde ge en uppfattning eftersom det är vanligt att en slutlig livsmedelsprodukt kommer från flera spannmålspartier.

5.3 Arbete framöver

Efter första inkuberingen av kärnor på agar var det ofta tillväxt av flera olika svampar. Det försvarade isoleringen av *Alternaria* och gjorde att sporer och mycel från andra svampar ofta följde med vid ympning. På grund av det utfördes isoleringen i två steg och medförde att antalet isolerade *Alternaria*-kolonier varierande mellan 0–10 av totalt 10 isolat från varje kärnprov. Median var 6 *Alternaria*-kolonier per prov. För att få en bättre representationen av fördelningen av sektion *Alternaria* respektive *Infectoriae* i sotdaggsinfekterat spannmål kan fler isolat per kärnprov tas. Det hade gett ett mer tillförlitligt resultat av fördelningen av vardera sektion i spannmål.

Den morfologiska bestämningen av sektion gjordes baserat på dels på kolonins färg på DRYES, dels på spormönster, tillväxtmönster och konidier enligt E. G Simmons identifikationsmanual som publicerats i boken "Food and Indoor Fungi" (2007). I manualen inkuberades *Alternaria* på PCA- agar (Potato Carrot Agar) och morfologiska särskiljningar mellan sektioner (tidigare uppdelat i arter) gjordes baserat på tillväxt på den typen av agar. Tillväxt på andra typer av agar kan ge skillnad i spormönster, tillväxtmönster och konidier jämfört med Simmons manual. I framtida arbeten med morfologisk bestämning av *Alternaria* kan det därför vara fördelaktigt att använda PCA i stället för DCMA. Alternativet att utföra ytterligare isolering på PCA övervägs men på grund av tidsbegränsning uteslöts det. En del av isolaten hade inte sporulerat vilket medförde att det inte kunde utföras en morfologisk bestämning eftersom det inte fanns sporer utan

enbart mycel. Chansen för sporulering hade kunnat öka vid inkubering vid annan typ av agar, förslagsvis PCA.

Eftersom EFSA har rekommenderat att övervaka halten av *Alternaria*-toxiner i livsmedel och foder kan lantbrukssektorn behöva förbereda sig och anpassa sig till nya riktlinjer för gränsvärden av mykotoxinerna. För att förbereda inför nya riktlinjer är det fördelaktigt att utreda förekomsten av *Alternaria* i Sverige ytterligare. Syftet med detta arbete var att undersöka *Alternaria* i spannmål och skapa en uppfattning om lägesbilden i svensk spannmål gällande närvaron och halten av mykotoxiner samt infektionsgrad och förekomst av *Alternaria*-sektioner vid sotdaggsinfektion. För att erhålla en representativ riskbedömning av risken för *Alternaria*-toxiner i svenska livsmedel och foder hade en annan typ av försöksdesign behövt genomföras där en slumpmässig insamling av spannmålsprover utförs. Regionala skillnader, eventuella riskgrödor och mottagliga sorter samt möjliga förebyggande insatser och motåtgärder är även av intresse att undersöka. Det är för att minska risker för konsumtion av mykotoxiner av djur och människor samt underlätta anpassningen för lantbrukssektor vid eventuell införsel av nya gränsvärden av *Alternaria*-toxiner.

5.4 Slutsats

Resultaten visar att *Alternaria*-förekomsten varierade mellan 10–100% (median 90%) i de 25 kraftigt sotdaggsinfekterade spannmålsprover som ingick i denna studie. Den mest förekommande *Alternaria*-sektionen var sektion *Infectoriae*. Toxinanalysen visar på en stor risk för närvaro av minst en mykotoxin vid symptom på kraftig sotdaggsinfektion och att den vanligaste toxinet är AOH. Vid ökad risk för angrepp av *Alternaria* som växtpatogen på grund av klimatförändringar finns även en ökad risk mykotoxiner i svensk spannmål som är viktig att övervaka.

Referenser

- Chomnunti, P., Hongsanan, S., Aguirre-Hudson, B., Tian, Q., Peršoh, D., Dhimi, M.K., Alias, A.S., Xu, J., Liu, X., Stadler, M. & Hyde, K.D. (2014). The sooty moulds. *Fungal Diversity*, 66 (1), 1–36. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0278-5>
- Dettman, J.R. & Eggertson, Q. (2022). New molecular markers for distinguishing the main phylogenetic lineages within *Alternaria* section *Alternaria*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 44 (5), 754–766. <https://doi.org/10.1080/07060661.2022.2061605>
- EFSA (2014). Scientific Opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal*, 12 (12), 3916. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3916>
- EFSA, E.F.S., Arcella, D., Eskola, M. & Gómez Ruiz, J.A. (2016). Dietary exposure assessment to *Alternaria* toxins in the European population. *EFSA Journal*, 14 (12), e04654. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4654>
- EFSA, E.P. on C. in the F. (2011). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. *EFSA Journal*, 9 (10), 2407. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2407>
- European Commission (2022). *Commission Recommendation*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022H0553>
- Felšöciová, S., Kowalczewski, P.L., Krajčovič, T., Dráb, Š. & Kačániová, M. (2021). Effect of Long-Term Storage on Mycobiota of Barley Grain and Malt. *Plants*, 10 (8), 1655. <https://doi.org/10.3390/plants10081655>
- Flessa, F., Harjes, J., Cáceres, M.E.S. & Rambold, G. (2021). Comparative analyses of sooty mould communities from Brazil and Central Europe. *Mycological Progress*, 20 (7), 869–887. <https://doi.org/10.1007/s11557-021-01700-0>
- Janić Hajnal, E., Mastilović, J., Bagi, F., Orčić, D., Budakov, D., Kos, J. & Savić, Z. (2019). Effect of Wheat Milling Process on the Distribution of *Alternaria* Toxins. *Toxins*, 11 (3), 139. <https://doi.org/10.3390/toxins11030139>
- Jordbruksverket (2022). *Livsmedelskonsumtion och näringsinnehåll. Uppgifter till och med 2022*. [text]. <https://jordbruksverket.se/om-jordbruksverket/jordbruksverkets-officiella-statistik/jordbruksverkets-statistikrapporter/statistik/2023-12-08-livsmedelskonsumtion-och-naringsinnehall.--uppgifter-till-och-med-2022> [2025-05-22]
- Khodaei, D., Javanmardi, F. & Khaneghah, A.M. (2021). The global overview of the occurrence of mycotoxins in cereals: a three-year survey. *Current Opinion in Food Science*, 39, 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.012>
- Kosiak, B., Torp, M., Skjerve, E. & Andersen, B. (2004). *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality—a matched pair sample study. *International Journal of Food Microbiology*, 93 (1), 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.006>

- Lawrence, D.P., Rotondo, F. & Gannibal, P.B. (2015). Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. *Mycological Progress*, 15 (1), 3.
<https://doi.org/10.1007/s11557-015-1144-x>
- Livsmedelsverket (2025). *Fullkorn*. <https://www.livsmedelsverket.se/matvanor-halsa--miljo/kostrad/kostrad-vuxna/fullkorn> [2025-06-08]
- Masiello, M., Somma, S., Susca, A., Ghionna, V., Logrieco, A.F., Franzoni, M., Ravaglia, S., Meca, G. & Moretti, A. (2020). Molecular Identification and Mycotoxin Production by *Alternaria* Species Occurring on Durum Wheat, Showing Black Point Symptoms. *Toxins*, 12 (4), 275.
<https://doi.org/10.3390/toxins12040275>
- Meena, M. & Samal, S. (2019). *Alternaria* host-specific (HSTs) toxins: An overview of chemical characterization, target sites, regulation and their toxic effects. *Toxicology Reports*, 6, 745–758. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.06.021>
- Moretti, A., Logrieco, A.F. & Susca, A. (2017). Mycotoxins: An Underhand Food Problem. I: Moretti, A. & Susca, A. (red.) *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols*. Springer. 3–12. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-0_1
- Patriarca, A., da Cruz Cabral, L., Pavicich, M.A., Nielsen, K.F. & Andersen, B. (2019). Secondary metabolite profiles of small-spored *Alternaria* support the new phylogenetic organization of the genus. *International Journal of Food Microbiology*, 291, 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.022>
- Pinto, V.E.F. & Patriarca, A. (2017). *Alternaria* Species and Their Associated Mycotoxins. I: Moretti, A. & Susca, A. (red.) *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols*. Springer. 13–32. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-0_2
- Pitt, I.J. & Hocking, D.A. (1997). *Fungi and Food Spoilage*.
- Poursafar, A., Ghosta, Y., Orina, A.S., Gannibal, P.B., Javan-Nikkhah, M. & Lawrence, D.P. (2018). Taxonomic study on *Alternaria* sections *Infectoriae* and *Pseudoalternaria* associated with black (sooty) head mold of wheat and barley in Iran. *Mycological Progress*, 17 (3), 343–356. <https://doi.org/10.1007/s11557-017-1358-1>
- Puvača, N., Bursić, V., Vuković, G., Budakov, D., Petrović, A., Merkuri, J., Avantaggiato, G. & Cara, M. (u.å.). Ascomycete Fungi (*Alternaria* spp.) Characterization as Major Feed Grains Pathogens.
- Różewicz, M., Wyzińska, M. & Grabiński, J. (2021). The Most Important Fungal Diseases of Cereals—Problems and Possible Solutions. *Agronomy*, 11 (4), 714. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040714>
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S. & Frisvad, J.C. (2004). *Introduction to Food- and Airborne Fungi*, 7th ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures. (7)
- Samson, R.A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvald, J.C. & Andersen, B. (2010). *Food and indoor fungi*. 2. uppl. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute.
- SCB (2018). *Varannan svensk har övervikt eller fetma. Statistikmyndigheten SCB*. <https://www.scb.se/hitta-statistik/artiklar/2018/varannan-svensk-har-overvikt-eller-fetma/> [2025-05-22]

- Sulyok, M., Stadler, D., Steiner, D. & Krska, R. (2020). Validation of an LC-MS/MS-based dilute-and-shoot approach for the quantification of > 500 mycotoxins and other secondary metabolites in food crops: challenges and solutions. *ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY*, 412 (11), 2607–2620. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02489-9>
- Thomma, B.P.H.J. (2003). *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4 (4), 225–236. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x>
- Turzhanova, A., Khapilina, O.N., Tumenbayeva, A., Shevtsov, V., Raiser, O. & Kalendar, R. (2020). Genetic diversity of *Alternaria* species associated with black point in wheat grains. *PeerJ*, 8, e9097. <https://doi.org/10.7717/peerj.9097>
- Walravens, J., Mikula, H., Rychlik, M., Asam, S., Ediage, E.N., Di Mavungu, J.D., Van Landschoot, A., Vanhaecke, L. & De Saeger, S. (2014). Development and validation of an ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometric method for the simultaneous determination of free and conjugated *Alternaria* toxins in cereal-based foodstuffs. *Journal of Chromatography A*, 1372, 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.083>
- Woudenberg, J.H.C., Groenewald, J.Z., Binder, M. & Crous, P.W. (2013). *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology*, 75, 171–212. <https://doi.org/10.3114/sim0015>
- Woudenberg, J.H.C., Seidl, M.F., Groenewald, J.Z., de Vries, M., Stielow, J.B., Thomma, B.P.H.J. & Crous, P.W. (2015). *Alternaria* section *Alternaria*: Species, *formae speciales* or pathotypes? *Studies in Mycology*, 82, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.07.001>
- Ünal, F. & Çakır, E. (u.å.). Molecular Identification of Sooty Molds on Wheat Fields in Central Anatolia Region and Effect of Seed Germination.
- Zwickel, T., Kahl, S.M., Rychlik, M. & Müller, M.E.H. (2018). Chemotaxonomy of Mycotoxigenic Small-Spored *Alternaria* Fungi – Do Multitoxin Mixtures Act as an Indicator for Species Differentiation? *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01368>

Tack

Jag vill börja med att ge ett stort tack till min handledare Hanna Friberg för all hjälp, inspiration och vägledning genom hela arbetet. Jag vill även ge en eloge till min biträdande handledare Su-Lin Hedén, utan dig hade jag inte klarat mig en dag i labbet. Ett stort tack ska även riktas till Andrea Patriarca som genomförde toxinanalysen på Cranfield University och bidrog med stor hjälp gällande morfologisk sektionsbestämning. Jag vill även tacka Gunnar Andersson och Neil Roussos de Kock från SVA som sett till att spannmålsproverna skickats för toxinanalys och förvarat dem för senare analyser. För inspiration till arbetet ska samrådsgruppen för mögel och mykotoxiner tackas och till sist vill jag tacka Maria Jonsson för hjälp och stöttning i labbet.

Bilaga 1

Prov nr	Prov ID	Spannings-sort	Region	Provdatum	Kärlor med <i>Alternaria</i> spp.	Kärlor med <i>A. Alternaria</i>	Kärlor med <i>A. Infectivae</i>	AOH [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	AME [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	TeA [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	ALT [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	ATX-I [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	TEN [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
1	23-FOD001317	Vete	Värmland	2023-09-06	80%	-	8/8	42,9	0	0	0	1,4	0
2	23-FOD001318	Korn	Västra Götaland	2023-09-06	52%	1/6	5/6	2,4	0	7,6	0	0,1	0
3	23-FOD001319	Havre	Värmland	2023-09-10	100%	1/5	4/5	137,3	27,2	0,2	0	9	9,9
4	23-FOD001320	Havre	Värmland	2023-09-11	86%	-	4/4	25,8	6,6	0	0	0,6	1,8
5	23-FOD001321	Korn	Örebro	2023-09-09	34%	-	7/7	19,1	0,6	3,7	0	0,8	0
6	23-FOD001322	Havre	Värmland	2023-09-08	100%	2	7/7	369,5	75,6	83,9	0	29	23,1
7	23-FOD001323	Korn	Värmland	2023-09-12	10%	-	-	2,8	0	6,5	0	0	0
8	23-FOD001329	Havre	Västra Götaland	2023-09-11	98%	-	6/6	43,5	8,6	0	0	0,8	0
9	23-FOD001330	Havre	Västra Götaland	2023-09-11	94%	-	7/7	8,4	3,6	0	0	3,3	0
10	23-FOD001331	Havre	Västra Götaland	2023-09-11	90%	-	7/7	47,5	5,3	0	0	4,5	0
11	23-FOD001332	Havre	Västra Götaland	2023-09-11	98%	-	3/3	17,3	5,6	0	0	0	0
12	23-FOD001333	Havre	Västra Götaland	2023-09-11	100%	1/8	7/8	50,1	12,8	0	0	19,2	0
13	23-FOD001334	Vete	Västra Götaland	2023-09-11	96%	-	8/8	2,9	0	0	0	1,3	0
14	23-FOD001335	Korn	Västra Götaland	2023-09-11	66%	-	8/8	2,1	0	4	0	0,6	0
15	23-FOD001336	Korn	Västra Götaland	2023-09-11	72%	-	7/7	12,4	0,5	2,9	0	0,9	0
16	23-FOD001337	Korn	Västra Götaland	2023-09-11	42%	-	4/4	14,5	0	0	0	0,1	0
17	23-FOD001338	Korn	Västra Götaland	2023-09-11	34%	-	6/6	8	0	0	0	0,9	0
18	23-FOD001350	Korn	Skåne	2023-09-19	96%	-	4/4	75,6	0,4	68,1	0	1,1	0,4
19	23-FOD001351	Korn	Skåne	2023-09-19	98%	-	6/6	100,5	6,6	10,5	0	0,5	0
20	23-FOD001352	Korn	Skåne	2023-09-19	92%	-	5/5	76,2	0,8	2,5	0	1,1	0
21	23-FOD001353	Korn	Skåne	2023-09-19	22%	-	7/7	13	0	2,4	0	0,4	0,2
22	23-FOD001485	Havre	Uppsala	2023-10-01	92%	-	-	34	2,8	22,3	0	5	13,7
23	23-FOD001486	Vete	Uppsala	2023-10-01	90%	-	10/10	6,7	0	0,8	0	1,5	0,8
24	23-FOD001487	Korn	Uppsala	2023-10-01	94%	-	6/6	51,6	0	0	0	0,9	0,5
25	23-FOD001488	Korn	Uppsala	2023-10-01	60%	1/7	6/7	25,2	0	0	0	0,5	0

Publicering och arkivering

☒ JA, jag, Malva Myrehed har läst och godkänner avtalet för publicering samt den personuppgiftsbehandling som sker i samband med detta

☐ NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse till att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.