

Bestrijding van Fusarium in wintertarwe

Effect van vochtgehalte van het graan op het DON-gehalte tijdens de bewaring.

H.T.A.M. Schepers en H.G. Spits

© 2005 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeleelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Dit projectrapport geeft de resultaten weer van het onderzoek dat het Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. heeft uitgevoerd in opdracht van:

Hoofdproductschap Akkerbouw
Postbus 29739
2502 LS 's-Gravenhage

Produktschap Granen Zadel en Peulvruchten
Postbus 29739
2502 LS 's-Gravenhage

Ministerie van Landbouw en Voedselkwaliteit
Postbus 20401
2500 EK 's-Gravenhage

Projectnummer: 5234378

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector AGV

Adres : Edelhertweg 1, Lelystad
: Postbus 430, 8200 AK Lelystad
Tel. : 0320 – 29 91 11
Fax : 0320 – 23 04 79
E-mail : info.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.wur.nl

Inhoudsopgave

Pagina

1	INLEIDING	5
1.1	Probleemstelling	5
1.2	Achtergrond	5
1.3	Doelstelling	5
1.4	Resultaat en effect	6
1.5	Algemeen	6
2	MATERIAAL EN METHODEN	9
2.1	2001	9
2.2	2002-2003	9
2.3	2003-2004	11
2.4	2004-2005	11
2.5	Analyse	12
3	RESULTATEN	13
3.1	2001	13
3.2	2002-2003	14
3.3	2003-2004	16
3.4	2004-2005	17
3.5	2002-2005	19
4	DISCUSSIE EN CONCLUSIES	21
4.1	Discussie	21
4.2	Conclusies	22

1 Inleiding

1.1 Probleemstelling

Fusarium kan in wintertarwe door een aantasting van de aar (kafjesrood) leiden tot een verminderde opbrengst en een lagere kwaliteit. De vorming van mycotoxinen (met name deoxynivalenol=DON) door *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* en *Fusarium graminearum* is een belangrijk aspect van deze kwaliteitsvermindering. Mycotoxinen kunnen gezondheidsproblemen veroorzaken en zijn uit oogpunt van voedselveiligheid ongewenst. De EU-limieten voor humane consumptie die zijn voorgesteld variëren van 200 ppb voor zuigelingen tot 1250 ppb voor onverwerkte granen (data 2004). Met de huidige maatschappelijke discussie omtrent voedselveiligheid is het van groot belang dat aarfusarium in wintertarwe tot een minimum beperkt wordt.

De korrels worden overwegend geïnfecteerd gedurende de bloei, zodat de schimmel zich tijdens de gehele periode van korrelvulling kan ontwikkelen. De omvang van de infectie en de mate van aantasting is in sterke mate afhankelijk van de groeiomstandigheden. Natte en vrij warme omstandigheden zijn gunstig voor infectie en schimmelgroei en bevorderlijk voor de productie van mycotoxinen.

Er zijn geen waarschuwingssystemen die aangeven welke Fusarium-soorten voorkomen en wanneer er infectiekansen zijn. Fungiciden zijn slechts beperkt werkzaam tegen Fusarium; ook als ze op het juiste tijdstip (= enkele dagen vóór of ná infectie tijdens de bloei) worden gespoten. De probleemstelling is dan ook met welke (combinatie van) maatregelen de aantasting door Fusarium (en de vorming van DON) zo veel mogelijk kan worden beperkt.

1.2 Achtergrond

In 1997 en 1998 veroorzaakte aaraantasting door Fusarium aanzienlijke opbrengstreducties. De vele regen tijdens de bloei had voor ideale infectieomstandigheden gezorgd. In West-Europa zijn vier belangrijke schimmels die aantasting van de aar veroorzaken: *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* en *Microdochium nivale*. In de landen om ons heen wijzen surveys op het naast elkaar voorkomen van alle soorten. Uit een monitoringsonderzoek uitgevoerd door Plant Research International in 2000/2001 bleek ook in Nederland *F. graminearum* de meest voorkomende Fusarium-soort. Uit een RIVM-onderzoek werd in 1999 duidelijk dat er DON voorkwam in een aantal graanproducten. In de USA en Duitsland is al veel onderzoek gedaan naar de bestrijding van Fusarium en het voorkómen van DON. Het blijkt dat de drie Fusarium-soorten (*F. culmorum*, *F. graminearum* en *F. avenaceum*) wél DON produceren en *M. nivale* (sneeuwschimmel) géén DON produceert. Steeds weer opnieuw blijkt dat het probleem zeer complex is en alleen kan worden aangepakt door een combinatie van maatregelen. In de USA heeft dit geleid tot het oprichten van een informatieplatform waarin alle disciplines die kunnen bijdragen aan een (deel)oplossing vertegenwoordigd zijn (www.scabusa.org). De rassenkeuze, teeltmaatregelen waaronder zaadontsmetting, vruchtwisseling, grondbewerking, fungiciden, spuittechniek, bemesting en bewaaromstandigheden bepalen in meer of mindere mate de bestrijding van Fusarium en de vorming van DON.

1.3 Doelstelling

Het beschrijven van de “state of the art” van alle mogelijkheden om aarfusarium te bestrijden en de vorming van mycotoxinen te beperken. Aanknopingspunten die uit deze inventarisatie komen, op hun praktische toepasbaarheid en effectiviteit toetsen in veldproeven.

1.4 Resultaat en effect

Ervaringen in andere landen geven aan dat de problematiek zeer complex is. Concrete aanknopingspunten uit buitenlands onderzoek worden in dit project getoetst op hun praktische bruikbaarheid. Van deze aanknopingspunten zal het perspectief voor het bijdragen aan het beperken van de aantasting door *Fusarium* en de vorming van DON bekend worden.

Het effect van het project zal tweeledig zijn:

1. een betere beheersbaarheid van *Fusarium* en meer inzicht in de bijdrage van de verschillende maatregelen zoals rasresistentie, fungiciden en spuittechniek.
2. een betere kwaliteit van het zaaizaad, betere kwaliteit van baktarwe en voertarwe.

Voor de praktijk is het van belang te weten:

1. Wat het verband is tussen fusariumgevoeligheid van rassen en de productie van mycotoxinen?
 2. Wat de productie van mycotoxinen is na toepassing van fungiciden (bij een laag aantastingsniveau)?
 3. Hoe de productie van mycotoxinen bij ongunstige oogstomstandigheden kan worden beperkt?
- Bovenstaande vragen stonden centraal in een onderzoeksvoorstel, dat in het voorjaar 2000 voor financiering aan het Productschap van Granen, Zaden en Peulvruchten en Hoofd Productschap Akkerbouw werd aangeboden. Het diende mede als aanzet voor een uitgebreidere studie over de problematiek van *Fusarium* in wintertarwe (project 1234378).

In rapport PPO 5234378 worden alle resultaten van onderzoek uit de periode 2000-2003 beschreven.

Omdat enkele onderzoeken nog doorliepen in een vervolgproject, is besloten om van deze onderwerpen een deelverslag te maken waarin ook de resultaten van 2004 zouden zijn opgenomen.

In dit deelrapport (3) zal alleen worden ingegaan op de resultaten aangaande de productie van DON tijdens de bewaring.

In deelrapport 1 en 2 wordt ingegaan op (1) het verband tussen *Fusarium*-gevoeligheid van rassen en de productie van DON en (2) de bestrijding van *Fusarium* door fungiciden en welke rol spuittechniek daarin heeft.

1.5 Algemeen

Natte weersomstandigheden tijdens de afrijping kunnen de oogst aanzienlijk vertragen en dientengevolge de vorming van mycotoxinen bevorderen. De vorming van DON in korrels gaat door, totdat de schimmelgroei door de indrogende korrel tot stilstand komt. Dit is het geval, wanneer het vochtgehalte tot onder de 20% is gezakt. Tijdens de indroging (fase van bindrijpheid), waarbij het vochtgehalte in de korrel daalt van circa 35% naar 15 à 17%, gaat de DON-productie in aangetaste korrels nog enige tijd door. Met name onder (natte) omstandigheden, die de afrijping en oogst vertragen, mag worden verwacht, dat er nog veel DON gevormd zal worden.

Doel van dit deelonderzoek is om het effect op DON-gehalte van verschillende vochtgehalten tijdens de bewaring na te gaan.

Overige mycotoxinen die kunnen worden gevormd zijn o.a. nivalenol, sterigmatocystine, ochratoxine en zearalenon (ZEA).

Nivalenol (NIV): Nivalenol wordt door verschillende soorten *Fusarium*-schimmels geproduceerd. De belangrijkste zijn onder andere door *F.cerealis* (*F.crookwellence*) en *F.poa*. De volgende schimmels produceren eveneens nivalenol maar in mindere mate: *F.graminearum*, *M.nivale* en *F.sporotrichoides*. Het voorkomen in granen en de daarmee samenhangende blootstelling wordt nog niet opportuun geacht om een zogenaamde 'No Adverse Effect Level' (NOAEL) voor mensen vast te stellen.

Sterigmatocystine wordt voornamelijk gevormd door *Aspergillus*-soorten. Veiligheidsnormen en de koppeling tussen sterigmatocystine en de biomassa van de producent (voornamelijk *Aspergillus*-soorten) zijn nog niet duidelijk.

Ochratoxine is een mycotoxine dat door meerdere schimmels behorende tot de families *Penicillium*

(voornamelijk *Penicillium viridicatum*) en Aspergillus (voornamelijk *Aspergillus ochraceus*) worden geproduceerd. In Europa wordt geschat dat de gemiddelde opname van ochratoxine 0,7-4,6 ng/kg lichaamsgewicht per dag bedraagt. Het Wetenschappelijk Comité voor de Voeding van de Europese Commissie oordeelde in 1994 dat de opname van ochratoxine A maximaal 5 ng/kg lichaamsgewicht zou mogen bedragen.

Zearalenon (ZEA) wordt door verschillende soorten Fusariumschimmels geproduceerd. De TDI (Total Daily Intake) is vastgesteld op 0,2 ug/kg lichaamsgewicht (veiligheidsfactor van 100). Geschat wordt dat de 'Europeaan' per dag aan 0,03 – 0,06 ug/kg lichaamsgewicht worden blootgesteld

2 Materiaal en methoden

2.1 2001

In de praktijk wordt aan karvon een fungicidewerking op fusarium toegedacht. Daarom werd karvon en karwijzaad aan het vochtige oogstproduct toegevoegd en de invloed ervan op de vorming van DON tijdens het indrogen nagegaan.

Om effecten van DON-vorming te kunnen onderzoeken is een gewas nodig, waarin een aantasting van aarfusarium voorkomt. Voor het onderzoek moest tarwe met een voldoende hoog vochtgehalte (29-35 %) en een lichte aantasting met Fusarium worden ingezet.

Uit een van nature, licht besmet perceel tarwe van het ras Vivant werd op 2 augustus 2001 ongeveer 50 kilogram onrijpe tarwe met ruim 30,7% vocht geoogst en gedorsen met een proefveldcombine. Het vochtgehalte van de tarwe werd bepaald door uit het perceel ongeveer 30 halmmonsters te knippen, te dorsen, te schonen en te drogen voor 3 uur bij 130 ° Celsius.

De tarwe werd tot de volgende ochtend opgeslagen (5 zakken van ongeveer 10 kilogram op een pallet) bij dagtemperatuur in het donker. Op 3 augustus werden per object 2 duplomonsters van 1750 gram tarwe gevormd. De behandelingen vonden plaats in een modelopstelling van kleine silo's, al of niet geventileerd. De geventileerde silo's werden met lucht van circa 18° Celsius geventileerd, waardoor de vochtgehaltes daalden. De varianten bestonden uit drogen, al dan niet in combinatie met inbreng van karvon (Talent[®], firma Luxan) of karwijzaad.

Tabel 1. Objecten in de bewaarproef 2001

Object	Behandeling
Object A	Tarwe, geoogst op 02-08-2001
Object B	Monster gedroogd tot 15 % vocht
Object C	Luchtdichte bewaring gedurende 4 dagen
Object D	- onbehandeld
Object E	- na bevochtiging met karvon-olie
Object F	- na inbrengen van karvon-damp
Object G	- na inbrengen van karwij-damp
Object H	- na menging met karwijzaad
Object I	- onbehandeld
Object J	- met karvon-damp
Object K	- na menging met karwij
Object L	- door een laag karwijzaad
Object L	Tarwe, geoogst op 22-08-2001

Direct na beëindigen van de behandelingen werden alle korrelmonsters (in plastic zakjes met labels afgesloten) ingevroren en bewaard in een diepvries bij -25 tot -30°Celsius.

De DON-gehalten werden op een later tijdstip vastgesteld.

2.2 2002-2003

In 2002 zijn verschillende bewaaromstandigheden onderzocht. De proef werd opgezet met twee uitgangspartijen, een laag en hoog DON-gehalte (Tabel 2). Na bepaling van het DON-gehalte van enkele praktijkpercelen op 1 augustus werden de rassen Kampa (DON < 100 ppb; vocht 26,0%) en Drifter (DON 320 ppb; 26,4%) geselecteerd.

Tabel 2. Objecten in de bewaarproef 2002-2003

Factor	niveau	Omschrijving
DON-gehalte uitgangssituatie	U1	Uitgangspartij 1: DON-gehalte laag
	U2	Uitgangspartij 2: DON-gehalte hoog
Bewaaromstandigheden	B1	Ongeconditioneerd
	B2	Geconditioneerd
Vochtgehalte	V1	Droog
	V2	Praktijk
	V3	Nat

Op 9 augustus werd 'vroeg', dat wil zeggen bij een hoog vochtgehalte (streefwaarde 20%), geoogst. Het gemeten vochtgehalte bij de oogst was 18,7%.

Per object werd een kist (ongeveer 1200 kg/1500l), met onderin gaas voor de beluchting, gevuld.

De beide partijen werden ingedroogd tot streefwaarden van droog (< 14,5 % vocht), praktijk (~ 16-17 % vocht) en nat (~ 19-20 % vocht).

De natte partijen werden op 9 augustus, de praktijk partijen op 12 augustus en de droge partijen op 22 augustus geplaatst. De kisten werden ongeconditioneerd (schuur) of geconditioneerd weggezet.

Het DON-gehalte bij aanvang van de proef, bemonsterd op 16 augustus, was voor Drifter 460 ppb en voor Kampa < 100 ppb.

Het vochtgehalte bij aanvang van de proef werd gemeten door exact 100 gram af te wegen en deze voor twee uur in een droogoven te zetten bij 130°Celsius (nadat de oven minstens 50 minuten was opgewarmd).

In het vervolg van de proef is het vochtgehalte bepaald door middel van een vochtgehaltemeter volgens protocol van het PPO-AGV. De vochtgehaltes bij plaatsing van de kisten staan weergegeven in Tabel 3.

Tabel 3. Vochtgehaltes bij aanvang bewaarproef 2002-2003 (%)

Ras	Bewaring	Omschrijving vochtgehalte	Percentage vocht
Kampa	ongecconditioneerd	Droog	13,3
Kampa	ongecconditioneerd	Praktijk	17,0
Kampa	ongecconditioneerd	Nat	18,7
Kampa	geconditioneerd	Droog	13,3
Kampa	geconditioneerd	Praktijk	17,0
Kampa	geconditioneerd	Nat	18,7
Drifter	ongecconditioneerd	Droog	13,0
Drifter	ongecconditioneerd	Praktijk	16,7
Drifter	ongecconditioneerd	Nat	18,7
Drifter	geconditioneerd	Droog	13,0
Drifter	geconditioneerd	Praktijk	16,7
Drifter	geconditioneerd	Nat	18,7

In de geconditioneerde cel is getracht het graan 'koel' te houden dat wil zeggen een ingestelde waarde van 12-15°Celsius. Bij het nastreven van een gemiddelde vochtgehalte van 16-17% van de tarwe is de RV bij de start van de proef ingesteld op 70% Op 5 september is de ingestelde RV verhoogd naar 75% en op 19 september naar 80%.

De kisten werden, afhankelijk van de resultaten, (eens per 14 dagen of) eens per maand bemonsterd. Bemonsterd werd op 5 en 19 september, 18 oktober, 14 november, 17 december, 17 januari en 21 februari.

De kisten met tarwe werden bij de monsternamen in september omgestort waarbij tegelijkertijd een mengmonster werd genomen volgens protocol van het PPO-AGV. Tijdens het omstorten van de tarwe werd 10 maal vanaf de zijkant tot het midden van de kist 300 gram tarwe bemonsterd voor een mengmonster van ongeveer 3 kilogram.

Het beluchten van de tarwe door middel van het omstorten van de tarwe beïnvloedt de bewaaromstandigheden. Slechte omstandigheden, door bijvoorbeeld broei, zouden de vorming van DON juist toe kunnen laten nemen. De monsternamen vanaf 18 oktober is verricht met een door het PPO-AGV ontwikkeld monstersysteem, waarbij een mengmonster op de volgende wijze werd genomen. Op 4 plekken

(horizontaal) diagonaal over kist verdeeld werden submonsters van ongeveer 90-100 gram genomen op 3 diepten. Het totale mengmonstergewicht was ongeveer 1,2 kilogram. Het DON-gehalte werd bepaald door middel van HPLC-techniek. De detectiedrempel van HPLC is 100 ppb. Voor de grafieken zijn waarden kleiner dan 100 ppb veranderd in een waarde van 100 ppb. Door de geringe verschillen DON-gehalten in september werden vanaf 18 oktober alleen de ongeconditioneerde kisten bemonsterd. Op 17 januari zijn de ongeconditioneerde kisten verplaatst van de schuur naar cel A13 in verband met de aanwezigheid van graanklanders. Deze cel werd niet geregeld en de deur van de cel stond open. Verwacht werd dat in de kisten met tarwe van 20% vocht ook andere bewaartoxinen gevormd zouden worden. Naast DON werd van de natte, ongeconditioneerde kisten het gehalte aan sterigmatocystine (17-12-2002 en 21-02-2003), ochratoxine (vanaf 18 oktober 2002) en zearalenon (21 februari 2003) bepaald door TLR.

2.3 2003-2004

In 2003 is de DON-ontwikkeling tijdens het bewaar seizoen onderzocht bij partijen die bij aanvang van het bewaar seizoen een verschillend vochtgehalte hadden. Het onderzoek werd opgezet met twee uitgangspartijen, een laag en hoog DON-gehalte (Tabel 4). Doordat 2003 de fusariumaantasting in de praktijk praktisch nihil was, was er geen praktijkpartij met een hoog DON-gehalte. Om toch een partij met een hoger DON-gehalte te krijgen is door een partij (Drifter) aangetaste korrels gemengd (50 kilo per ton). Het mengen/toevoegen van de korrels gebeurde per kist. Deze aangetaste korrels kwamen uit een proef welke kunstmatig besmet was. De partij met een laag DON-gehalte was van het ras Kampa. Beide partijen werden geoogst bij een vochtpercentage van ruim 18%. Vervolgens zijn de objecten "Droog" en "Praktijk" kunstmatig gedroogd tot respectievelijk ongeveer 12% en 15% vocht. De kisten werden, afhankelijk van de resultaten, (eens per 14 dagen of) eens per maand bemonsterd. Bemonsterd werd op 23 september, 7 en 21 oktober, 21 november, 18 december (2003), 20 januari, 20 februari en 18 maart (2004). De kisten waren opgeslagen in een niet afgesloten bewaring. De temperatuur was bij aanvang van de proef 23°C en daalde tot ongeveer 11°C eind oktober. Gedurende de winter was de temperatuur in het graan ongeveer 8°C (gedetailleerde data in bijlage 2). Op 4 plekken (horizontaal) diagonaal over kist verdeeld werden submonsters van ongeveer 90-100 gram genomen op 3 diepten. Het totale mengmonstergewicht was ongeveer 1,2 kilogram. Het DON-gehalte werd bepaald door middel van HPLC-techniek.

Tabel 4. Bewaarproef 2003-2004

Factor	niveau	Omschrijving
DON-gehalte uitgangssituatie	U1	Uitgangspartij 1: DON-gehalte laag
	U2	Uitgangspartij 2: DON-gehalte hoog
Vochtgehalte	V1	Droog
	V2	Praktijk
	V3	Nat

2.4 2004-2005

In 2004 is de DON-ontwikkeling tijdens het bewaar seizoen onderzocht bij partijen die bij aanvang van het bewaar seizoen een verschillend vochtgehalte hadden. Het onderzoek werd opgezet met twee uitgangspartijen, een laag en hoog DON-gehalte. Doordat 2004 de fusariumaantasting in de praktijk praktisch nihil was, was er geen praktijk partij met DON. Om toch partijen met een verschillend DON-gehalte te krijgen is door de 2 partijen (Bristol) een verschillend hoeveelheid aangetaste korrels gemengd. Bij de partij met als uitgangssituatie een hoog/laag DON-gehalte werd respectievelijk 80 en 35 kilo (per ton) aangetaste korrels gemengd. Het mengen/toevoegen van de korrels

gebeurde per kist. Deze aangetaste korrels kwamen uit een proef welke kunstmatig besmet was. De partij met Bristol is geoogst bij een vochtpercentage van bijna 18%. Vervolgens zijn de objecten "Droog" kunstmatig gedroogd tot ongeveer 13%. In de periode na oogst daalde het vocht percentage van de natte partij ook. Om deze toch vochtig te houden (18%) zijn de korrels 2 keer bevochtigd met water (20 liter per ton). Dit gebeurde door het graan om te storten in een andere bewaarkist en gelijktijdig water te vernevelen. Bemonsterd werd op 9 september, 12 oktober, 16 november, 14 december (2004), 24 januari, 14 februari, 14 maart en 15 april (2005) (Foto 1). De kisten waren opgeslagen in een niet afgesloten bewaring. De temperatuur was bij aanvang van de proef 20°C en daalde tot ongeveer 7°C eind december. Gedurende de winter was de temperatuur in het graan ongeveer 7°C (gedetailleerde data in bijlage 2). Op 4 plekken (horizontaal) diagonaal over kist verdeeld werden submonsters van ongeveer 90-100 gram genomen op 3 diepten. Het totale mengmonstergewicht was ongeveer 1,2 kilogram. Het DON-gehalte werd bepaald door middel van HPLC-techniek.



Foto 1. Het bemonsteren van het graan voor DON- en vocht analyse.

2.5 Analyse

Het onderzoek is per jaar is niet opgezet als een proef. Dat wil zeggen niet met herhalingen. De objecten zijn als enkelvoud uitgevoerd. Statistische analyse over de afzonderlijke resultaten per jaar is hierdoor niet mogelijk. Bij de bewaarproeven 2002-2004 zijn de resultaten alleen over de jaren gezamenlijk geanalyseerd.

3 Resultaten

3.1 2001

In Tabel 5 zijn de DON-gehalten van de onderzochte behandelingen weergegeven.

Tabel 5. DON-gehalten (in ppb) in korrels na behandeling van vroegtijdig geoogste tarwe

Object	Behandeling	DON-gehalten
Object A	Tarwe, geoogst op 02-08-2001	2956
Object B	Monster gedroogd tot 15 % vocht	4147
Object C	Luchtdichte bewaring gedurende 4 dagen	- onbehandeld 3797
Object D		- na bevochtiging met karvon-olie 5793
Object E		- na inbrengen van karvon-damp 6790
Object F		- na inbrengen van karwij-damp 10090
Object G		- na menging met karwijzaad 4053
Object H	Droging gedurende 4 dagen door ventilatie	- onbehandeld 9226
Object I		- met karvon-damp 5720
Object J		- na menging met karwij 5585
Object K		- door een laag karwijzaad 8546
Object L	Tarwe, geoogst op 22-08-2001	7231

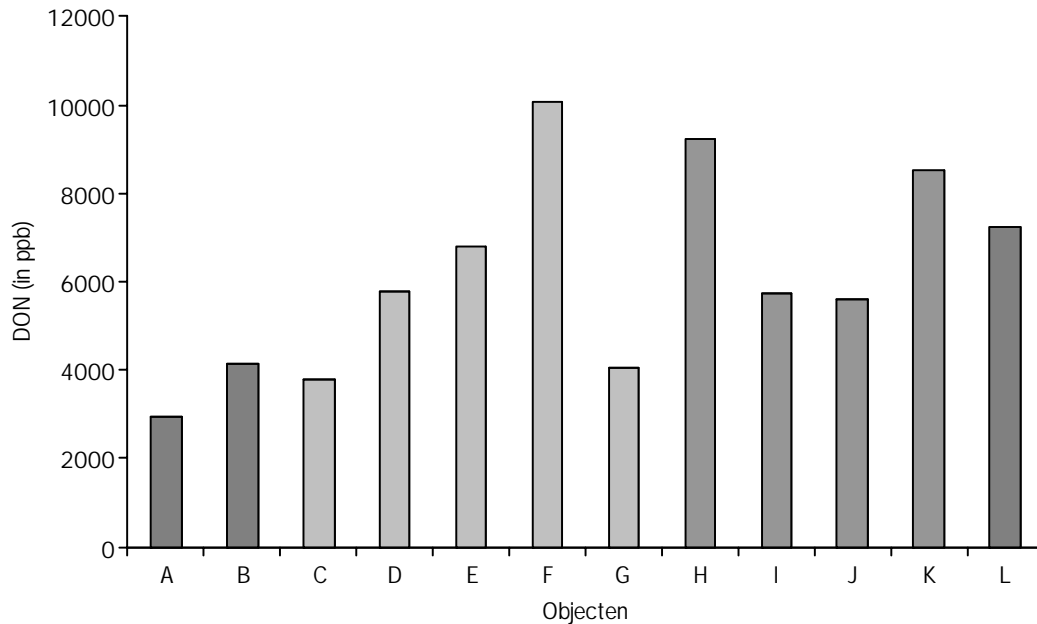
Over de resultaten kunnen geen harde uitspraken worden gegeven omdat de objecten niet in meer-voud zijn aangelegd.

De cijfers uit de tabel geven de indicatie dat tijdens de fase van afrijping en indroging het DON-gehalte toenam. In de vochtige tarwe werd op 02-08-2001 (object A) 2956 ppb vastgesteld. Bij droging tot 15% vocht (object B) was het DON-gehalte 4147 ppb. Bij de oogst van het proefveld op 22 augustus (object L) werd 7231 ppb gemeten.

Bij de vochtige monsters die na een behandeling nog 4 dagen luchtdicht zijn weggezet (objecten C tot en met G) bij kamertemperatuur (circa 18° Celsius) lijkt een lichte (onbehandeld 3797 ppb) tot zware stijging (10090 na inbrengen karwij-damp) in het DON-gehalte voor te komen. De behandeling waarbij karwijzaad werd gemengd met de korrels lijkten de minste toename in DON-gehalte (4053 ppb) te geven.

Ondanks de gunstige omstandigheden voor het laag blijven van de DON-gehalten lijkt in die 4 dagen een toename van DON te kunnen worden vastgesteld. Inbrengen van karwij of karvon lijkt hier geen positieve bijdrage aan te leveren.

Tijdens het drogen van de tarwe met luchtventilatie gedurende 4 dagen (objecten H tot en met K) lijkt het DON-gehalte toe te nemen. Een behandeling met karvon-damp (object I = 5720 ppb) en menging met karwijzaad (object J = 5585) lijkt de toename van DON wat af te remmen ten opzichte van een onbehandelde droging gedurende vier dagen (object H = 9226 ppb), maar ventilatie door een laag karwijzaad deed dit niet (object K = 8546 ppb).



Figuur 1. Bewaarproef 2001: DON-gehalten na behandeling van vroegtijdig geoogste tarwe.

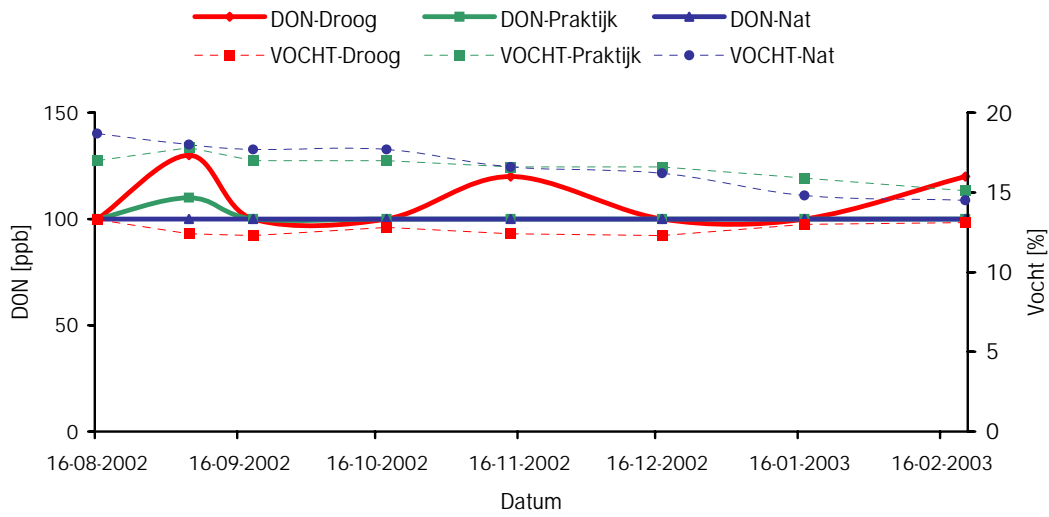
3.2 2002-2003

De DON-gehalten en vochtgehalten van Kampa en Drifter (respectievelijk Figuur 2 en 3) bleven onder de actielimiet van 500 ppb.

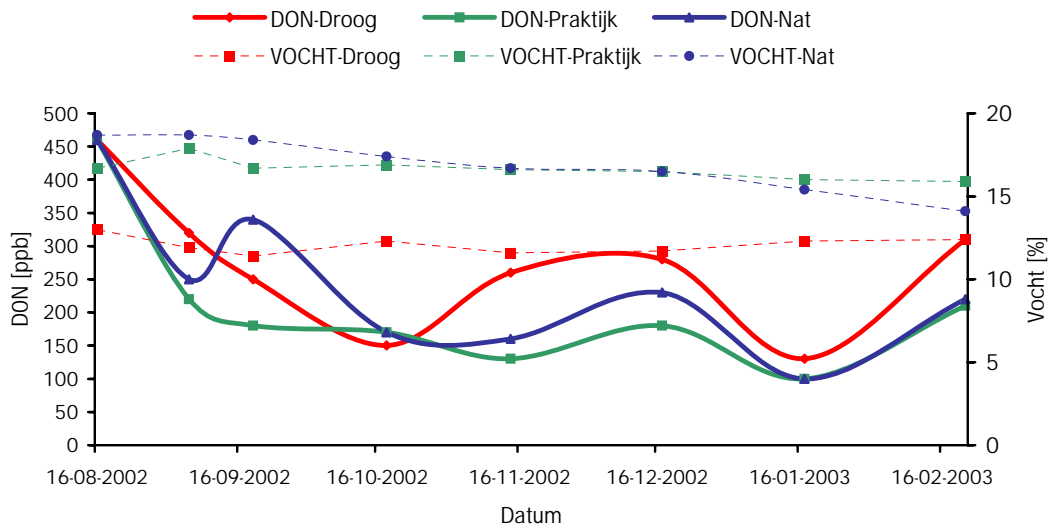
Bij Kampa was het DON-gehalte van de natte partij altijd lager dan 100 ppb. De praktijkpartij behaalde alleen op 5 september had een waarde van 110 ppb, de overige waarden waren lager dan 100 ppb. De droge partij op 5 september had een waarde van 130 ppb en op 14 november en 21 februari hadden ze een waarde van 120 ppb, de overige waarden waren lager dan 100 ppb.

Bij Drifter schommelden de waarden, maar stegen niet boven de uitgangssituatie van 460 ppb uit. Vanaf november was het DON-gehalte in de 'droge' partij steeds hoger dan in de 'natte' en 'praktijk' partij. De praktijkpartij had steeds het laagste DON-gehalte.

De vochtgehalten bleven slecht op hun streefwaarden. Voornamelijk de natte partijen daalden in vochtgehalten na verloop van tijd. Bij Kampa was de droge partij gemiddeld 12,6%. De praktijkpartij 16,6% en de natte partij 16,5%. Bij Drifter was de droge partij gemiddeld 11,9%, de praktijkpartij 16,6% en de natte partij 16,7%.



Figuur 2. Verloop vocht- en DON-gehalte in de bewaarproef 2002-2003 (ras Kampa).



Figuur 3. Verloop vocht- en DON-gehalte in de bewaarproef 2002-2003 (ras Drifter).

In Tabel 6 staan de bemonsterde mycotoxinen van de 'natte' partijen weergegeven. Drifter blijkt hogere gehalten aan mycotoxines te hebben dan Kampa. Daar actielimieten van de genoemde mycotoxinen niet bestaat, zijn de gemeten waarden niet te interpreteren.

Tabel 6. Bewaarproef 2002-2003: Ochratoxine, sterigmatocystine en zearalenon [ppb]

Ras	ochratoxine					sterigmatocystine		zearalenon
	18-10-02	14-11-02	17-12-02	17-01-03	21-02-03	17-12-02	21-02-03	21-02-03
Kampa	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	10,8	8,4	< 5,0
Drifter	< 1	5,6	5	2	3,2	29,0	70,5	47

3.3 2003-2004

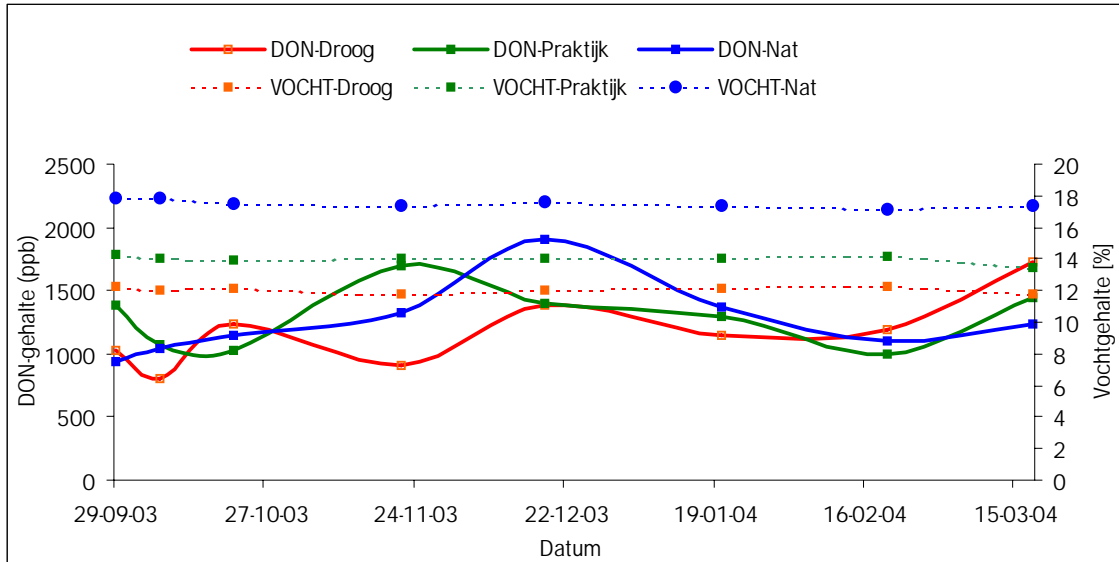
In het bewaaronderzoek 2003-2004 is er geanalyseerd op meerdere mycotoxinen. De analyses zijn aan het einde van het bewaarperiode (03-04) uitgevoerd. De resultaten daarvan staan in Tabel 7. Alleen bij de graanpartij welke met een hoog DON-gehalte de bewaring in ging, werden 2 mycotoxinen boven de detectiegrens gevonden. Het ging hierbij om 3-Ac-DON en deoxynivalenol (DON). Voor DON is besloten om op meerdere tijdstippen tijdens het bewaarperiode een analyse uit te voeren.

De analyseresultaten staan weergegeven in Figuur 4. Aan het einde van het bewaarperiode is het DON-gehalte bij de "droge" en "natte" partij iets hoger dan bij aanvang van de proef. Bij de "praktijk" partij is het DON-gehalte nagenoeg onveranderd gebleven.

Tabel 7.. Gehalte (ppb) van ieder mycotoxine bij de verschillende objecten (vochtgehalten) aan het einde van het bewaarperiode 2003-2004.

mycotoxine	object	DON vocht%	laag droog	laag praktijk	laag nat	hoog droog	hoog praktijk	hoog nat
Aflatoxin B1			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Aflatoxin B2			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Aflatoxin G1			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Aflatoxin G2			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
3-Ac-DON			< 50,0	< 50,0	< 50,0	130*	67	< 50,0
Deoxynivalenol (DON) /Vomitoxin			< 100	< 100	< 100	1719	1440	1230
Diacetoxyscripenol (DAS)			< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0
Fumonisin B1			< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Fumonisin B2			< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
HT-2 Toxin			< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0
Nivalenol (NIV)			< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
Ochratoxin A (OTA)			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Sterigmatocystin			< 1,0	< 1,0	8,5	< 1,0	< 1,0	< 1,0
T-2 Toxin			< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0
a+b Zearalenol (ZEL)			< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0
Zearalenone (ZEA)			< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Cyclopiazonic acid			< 25,0	< 25,0	< 25,0	< 25,0	< 25,0	< 25,0

* vet gedrukt zijn waarden boven de detectiegrens.



Figuur 4. Verloop vocht- en DON-gehalte in de bewaarproef 2003-2004 (ras Drifter).

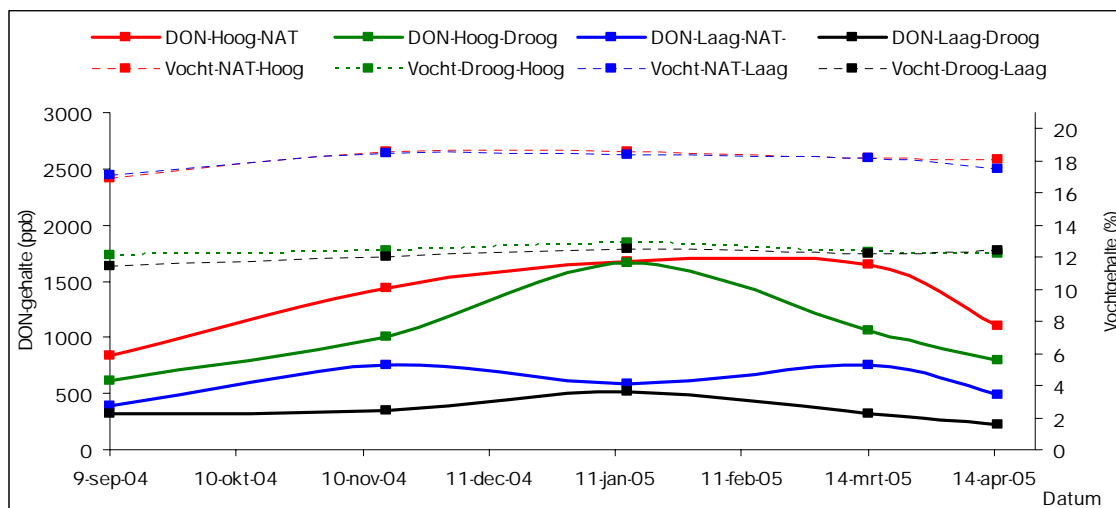
3.4 2004-2005

In Figuur 5 staan het vocht- en DON-gehalte weergegeven van het bewaaronderzoek 2004-2005. Zowel van de "natte" als van de "droge" partijen blijft het vochtgehalte gedurende het bewaar seizoen vrij constant (Foto 2). Bij het DON-gehalte is iets meer spreiding/fluctuatie gemeten. Bij de partijen waar een hoog DON-gehalte aanwezig was, was er eerst een lichte stijging te zien. Vervolgens trad er een daling van het gehalte op. Over het hele seizoen is er gemiddeld een kleine toename van het DON-gehalte waargenomen. Daarbij lijkt de hoeveelheid DON aan het begin van het bewaar seizoen meer van invloed dan het vochtgehalte van het graan.

Bij het graan dat bij een hoog vochtgehalte werd opgeslagen zien we dat er wel ander mycotoxinen geproduceerd worden. Het gaat hierbij om sterigmatocystine en zearalenone (Tabel 8). Deze worden o.a. geproduceerd door *Aspergillus spp.* en *Penicillium spp.*



Foto 2. Het bepalen van het vochtgehalte van de graankorrels.



Figuur 5. Verloop vocht- en DON-gehalte in de bewaarproef 2004-2005.

Tabel 8. Gehalte (ppb) van ieder mycotoxine bij de verschillende objecten (vochtgehalten) aan het einde van het bewaarstizoen 2004-2005.

mycotoxine	object	DON vocht%	hoog nat	hoog droog	laag nat	hoog droog
Aflatoxin B1			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Aflatoxin B2			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Aflatoxin G1			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Aflatoxin G2			< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
3-Ac-DON			< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0
Deoxynivalenol (DON) /Vomitoxin			1100*	790	490	230
Diacetoxyscripenol (DAS)			< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0
Fumonisin B1			< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Fumonisin B2			< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
HT-2 Toxin			< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0
Nivalenol (NIV)			< 500	< 500	< 500	< 500
Ochratoxin A (OTA)			< 1,0	< 1,0	1,5	< 1,0
Sterigmatocystin			36	< 1,0	342	< 1,0
T-2 Toxin			< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0
a+b Zearalenol (ZEL)			< 50,0	< 50,0	< 50,0	< 50,0
Zearalenone (ZEA)			79	<5,0	47	<5,0
Cyclopiazonic acid			< 25,0	< 25,0	< 25,0	< 25,0

* vet gedrukt zijn waarden boven de detectiegrens.

3.5 2002-2005

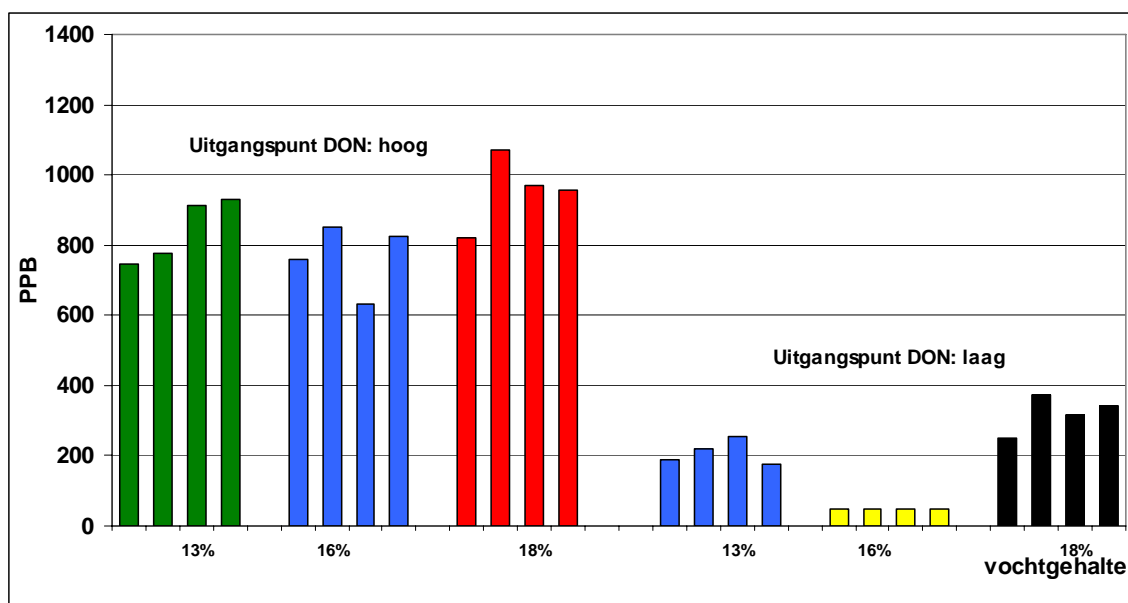
In de bewaarstizoenen 2002/2003, 2003/2004 en 2004/2005 zijn graanmonsters bewaard die varieerden zowel in vochtgehalte als in dongehalte. Er waren drie vochniveaus: droog (± 13 % vocht), nat (± 18 % vocht) en Praktijk (± 16 % vocht) en een laag en hoog gehalte aan don. Tijdens de bewaring is in de proefjaren op 8 tijdstippen het dongehalte van de korrels bepaald. Echter in 2002 en 2003 is op tijdstippen 1 tot en met 7 gemeten. In 2004 werd eerst gemeten op tijdstippen 1, 3, 5, 7 en 8 om te besparen op bemonsteringskosten. In 2003 zijn alleen monsters met een hoog dongehalte bewaard bij drie vochniveaus. De monsters met laag dongehalte zijn toen niet meegenomen in het onderzoek omdat het gehalte aan don lager was dan de detectiegrens. In 2004 zijn alleen droge en natte monster bewaard bij hoog en laag dongehalte. De praktijkmonsters zijn mislukt. Omdat niet elk jaar op dezelfde tijdstippen werd gemeten en ook het verloop van het dongehalte in de tijd sterk uiteenliep, zijn steeds 2 opeenvolgend tijdstippen samengevoegd (tabel 9). De rekenkundige gemiddelden per tijdstip en niveau van vocht- en dongehalte over de drie proefjaren staan vermeld in tabel 9. Wordt nu variantie-analyse uitgevoerd op de gegevens uit tabel 9 dan is er geen effect van tijdstip, en ook geen interactie van tijdstip met vocht- of dongehalte. Het dongehalte tijdens het bewaarstizoen bleef dus constant. Hoge gehalten bleven hoog en lage gehalten bleven laag, bij alledrie de vochniveaus. Ook variantie analyse met een gemengd model op de oorspronkelijke data waarbij de factor jaar werd opgenomen (bijlage 3) leidde tot deze conclusie.

Tabel 9. Verloop van het DON-gehalte (ppb) tijdens de bewaring bij een verschillend DON- en vochtgehalte van de graankorrel gemiddeld over drie bewaarperioden (2002-2005).

Vocht-gehalte	DON-gehalte	tijd ¹	1+2	3+4	5+6	7+8
Droog (+/- 13%)	hoog		748	776	914	929
	laag		187	220	254	176
Nat (+/- 18%)	hoog		819	1073	969	957
	laag		250	374	314	343
Praktijk (+/- 16)	hoog		760	850	632	825
	laag ²		50	50	50	50
LSD (0.05)				392		

¹) tijdstip 1 is begin bewaarperiode(september) en tijdstip 4 is einde bewaarperiode (maart).

²) gebaseerd op 1 jarig onderzoek. DON-gehalte lag onder de detectiegrens en daarom een aanname van 50 ppb.



Figuur 5. Verloop DON-gehalte in de bewaarproeven 2002-2005. Eerste kolom is begin bewaarperiode en rechter kolom is einde bewaarperiode (per kleur).

4 Discussie en conclusies

4.1 Discussie

In 2001 is onderzoek verricht naar het effect van karvon op de vorming van DON door fusariumschimmels. In de praktijk wordt er aan karvon een fungicidenwerking toegedacht. Hierdoor zou het van betekenis kunnen zijn bij de beheersing van fusarium (DON-vorming) in wintertarwe. Karvon zou dan de schimmel in de korrel moeten onderdrukken en daarmee de DON-vorming. Om dit te onderzoeken werd besmette tarwe met een vochtgehalte van ongeveer 30% geogst. In een partij met 30% zou de schimmel nog intact zijn en DON-produceren. Vervolgens werden verschillende behandelingen met karvon uitgevoerd. Hoewel dit geen praktijksituatie (oogsten bij 30% vocht) is, kan bij deze proefopzet wel inzicht verkregen in het effect van karvon op DON-vorming.

De resultaten van het onderzoek waren variabel en gaven geen perspectief om een groter experiment uit te voeren.

In de jaren 2002-2005 is onderzoek verricht naar de invloed van vocht op DON vorming tijdens de bewaring. Hiertoe is in 2002 een partij graan met een natuurlijke besmetting met fusarium gebruikt. In de jaren 2003 en 2004 is een partij graan gebruikt waarbij besmette korrels door de partij is gemengd. Dit is zo uitgevoerd omdat er, door de droge omstandigheden tijdens de bloei, geen partij graan voor handen was met een natuurlijke aantasting door fusarium.

Wat opvalt bij de resultaten van de proeven in 2003-2005 is dat er nogal wat spreiding aanwezig is tussen de bemonsteringstijdstippen. Een mogelijke oorzaak kan zijn dat er gewerkt is met partijen graan die van nature geen DON bevatten. Door deze partijen zijn vóór aanvang van de proef aangetaste korrels gemengd. Hierdoor kan de verdeling van DON (aangetaste korrels) niet homogeen over de kist zijn verdeeld. Tevens kan dit kunstmatig besmetten van de partij de oorzaak zijn dat de resultaten niet geheel overeenkomen met die van de proef in 2002-2003 welke een natuurlijke besmetting had. Hier was een lichte daling van het DON-gehalte te zien gedurende de bewaarperiode.

Ondanks dat er bij deze partijen met een kunstmatige besmetting werd gewerkt, kwamen de resultaten overeen met het recent uitgevoerd onderzoek van R. Hope et al. (2005)¹. In dit onderzoek werden tarwe korrels met een verschillend vochtpercentage besmet met *F. culmorum* of *F. graminearum*. Na verloop van tijd werd het DON-gehalte bepaald. Hieruit bleek dat bij vochtpercentages onder de 22% geen DON werd geproduceerd door de schimmels.

In 2002 werd het graan in geconditioneerde cellen bewaard. De vochtgehalten bleven slecht op hun streefwaarden. Voornamelijk de natte partijen daalden in vochtgehalten na verloop van tijd. De ingestelde relatieve luchtvochtigheid van 70% in de cellen voor de "natte" partijen leek te laag en werd daarom verhoogd naar 80%.

In de jaren 2003 en 2004 werden de partijen niet meer onder geconditioneerde omstandigheden bewaard. In deze jaren bleef het vochtgehalte van het graan beter op peil. Bij aanvang van de proef in 2004 daalde het vochtgehalte van de "natte" partijen graan erg snel. Om het indrogen te stoppen/vertragen werd de partij 2 maal omgestort en bevochtigd. Bevochtigen gebeurde door tijdens het omstorten van het graan water te vernevelen. Hierdoor steeg het vochtgehalte van het graan weer tot ruim 18%. Gedurende het bewaarperiode daalde het vochtgehalte licht, tot net iets onder de 18%.

¹ Hope, R., Aldred D. and Magan N. Comparison of environmental profiles for growth and deoxynivalenol production by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* on wheat grain. The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology 2005, 40, 295-300.

4.2 Conclusies

Effect van karvon

- Het nut van karvon of karwijzaad kan niet worden aangegeven, maar lijkt hooguit van beperkte omvang te zijn.

Bewaaromstandigheden

- Gemiddeld is er geen significante toename van het DON-gehalte tijdens de bewaring.
- De hoogte van het DON-gehalte bij het begin van de bewaring en het vochtgehalte van de korrels hebben geen invloed op het DON-gehalte gedurende de bewaring.
- Bewaring bij een vochtpercentage hoger dan 18% verhoogt de kans op vorming van sterigmatocystine en zearalenone.

Voor de praktijk is de boodschap om "natte" partijen graan zo snel mogelijk na de oogst terug te drogen tot 15-16% om te voorkomen dat er schimmelgroei kan ontstaan en zo mycotoxinen kunnen worden geproduceerd.

Bijlage 1. Behandelingen bewaarproef 2001

De behandelingen waren:

Object A: monster op 3 augustus direct invriezen (= uitgangssituatie)

Object B: monster drogen bij 30 ° Celsius tot 15% vocht (droogtijd ongeveer 12 uren in stoof)

Objecten zonder ventilatie (afgesloten met deksel):

Object C: korrelmonster 4 dagen (luchtdicht) laten staan bij dagtemperatuur.

Object D: korrelmonster bevochtigen door middel van een plantenspuit met een overmaat (\pm 125 ml) karvon en 4 dagen (luchtdicht) laten staan.

Object E: korrelmonsters circa 3 uren ventileren door middel van een warmhoudplaat met (\pm 250 ml) karvon en 4 dagen (luchtdicht) laten staan.

Object F: korrelmonsters circa 3 uren ventileren door middel van een warmhoudplaat met lucht aangezogen door een laag karwijzaad (87,5 gram karwij per 1750 gram tarwe) en 4 dagen (luchtdicht) laten staan.

Object G: korrelmonsters mengen met karwijzaad (50 gram karwij per kilogram tarwe) en 4 dagen (luchtdicht) laten staan.

Objecten met continue ventilatie gedurende 4 dagen (met buitenlucht van circa 18 ° Celsius)

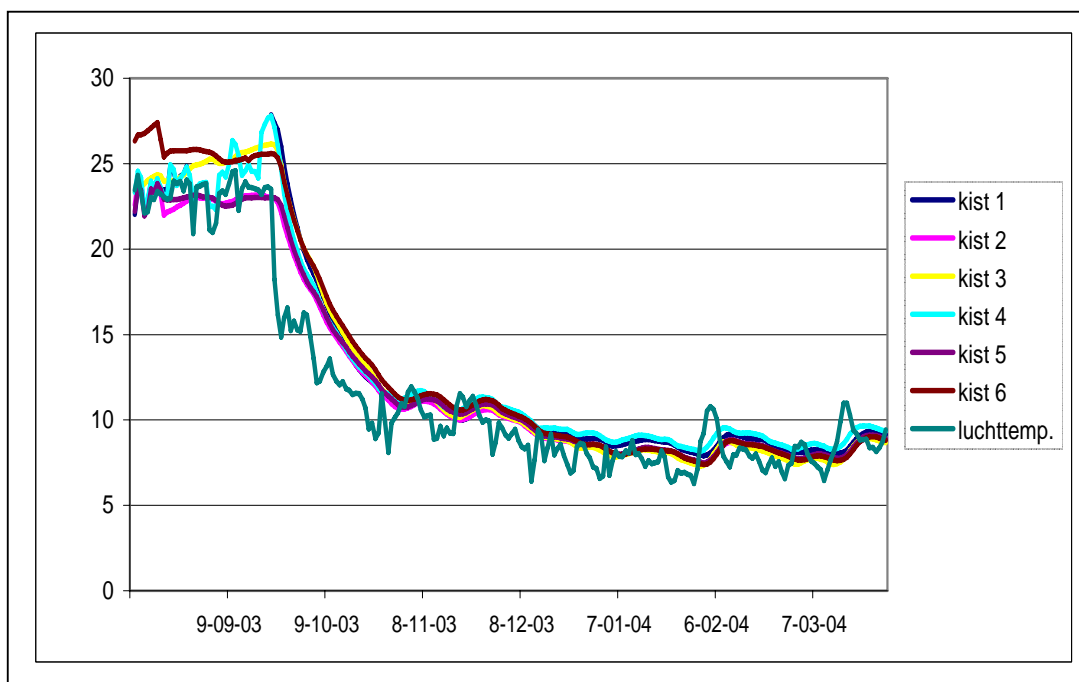
Object H: korrelmonsters 4 dagen ventileren (met buitenlucht van 3 tot 7 augustus).

Object I: korrelmonsters 4 dagen ventileren met buitenlucht dat wordt aangezogen over \pm 250 ml karvon.

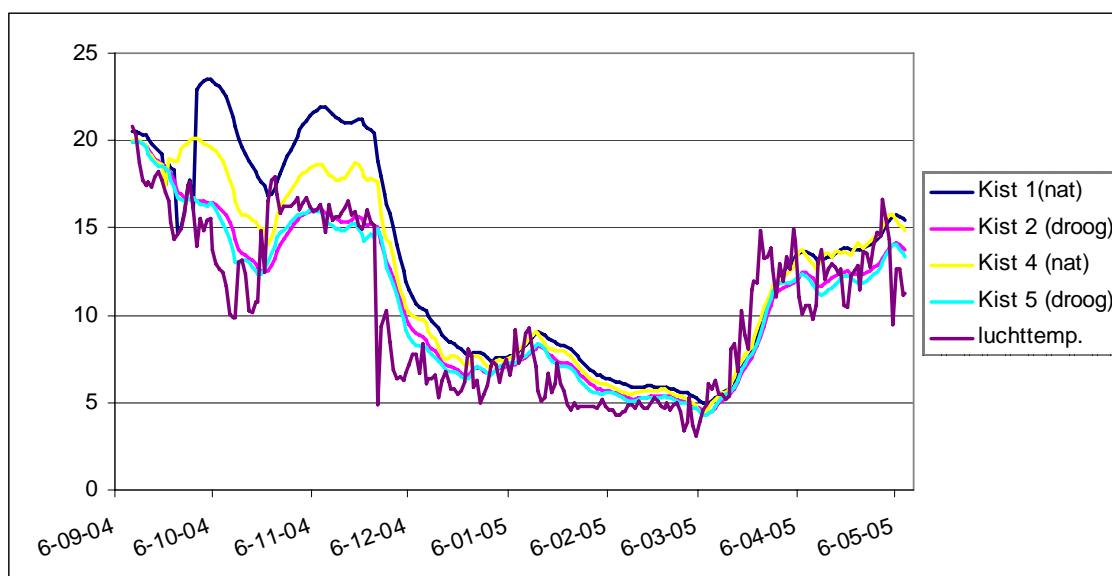
Object J: korrelmonster mengen met karwij (87,5 gram karwij per 1750 gram tarwe) en 4 dagen ventileren.

Object K: korrelmonster 4 dagen ventileren met buitenlucht dat wordt aangezogen door een laag karwij (87,5 gram karwij per 1750 gram tarwe) en 4 dagen ventileren.

Bijlage 2. Temperatuur verloop



Figuur 6. Temperatuur in de bewaarkisten en van de luchttemperatuur gedurende de bewaarperiode 2003-2004



Figuur 7. Temperatuur in de bewaarkisten en van de luchttemperatuur gedurende de bewaarperiode 2004-2005

Bijlage 3. Data bewaarproeven 2002-2004 + analyse

Dongehalte 2002/2003, 2003/2004 en 2004/2005 en waldtesten uit gemengd lineair model met weer de tijdstippen 1-2, 3-4, 5-6 en 7-8 en jaar en monster binnen jaar als random termen. Bij deze analyse worden de behandelingen (Fixed terms) getoetst tegen de interactie van deze termen met jaar. Wanneer chi pr < 0.05 dan is het behandelingseffect significant.

Tabel 10. DON-gehalten van de monsters uit het bewaaronderzoek 2002-2004

Jaar!	Don!	Vocht!	t1	t2	t3	t4	t5	t6	t7	t8
2004/5	hoog	nat	840		1440		1670		1650	1100
2004/5	hoog	droog	610		1010		1660		1060	790
2004/5	laag	nat	390		760		580		750	490
2004/5	laag	droog	320		350		520		320	230
2003/4	hoog	droog	1030	1230	910	1390	1150	1190	1719	
2003/4	hoog	praktijk	1380	1020	1700	1400	1300	1000	1440	
2003/4	hoog	nat	940	1140	1320	1900	1370	1100	1230	
2002/3	laag	droog	50	50	50	120	50	50	120	
2002/3	laag	praktijk	50	50	50	50	50	50	50	
2002/3	laag	nat	50	50	50	50	50	50	50	
2002/3	hoog	droog	460	250	150	260	280	130	310	
2002/3	hoog	praktijk	460	180	170	130	180	50	210	
2002/3	hoog	nat	460	340	170	160	230	100	220	

Wald tests for fixed effects

Sequentially adding terms to fixed model

Fixed term	Wald statistic	d.f.	Wald/d.f.	chi pr
Vocht	0.79	2	0.39	0.674
Don	10.29	1	10.29	0.001
Tijd4	2.75	3	0.92	0.432
Vocht.Don	0.44	2	0.22	0.801
Vocht.Tijd4	3.96	6	0.66	0.682
Don.Tijd4	0.85	3	0.28	0.839
Vocht.Don.Tijd4	1.46	6	0.24	0.962

