

Riikliku programmi “Põllumajanduslikud
rakendusuuringud ja arendustegevus
aastatel 2009–2014” lisa 4

Eesti Taimekasvatuse Instituut

**Vähetuntud toksiine tekitavate hallitussente nomenklatuuri
täpsustamine, toksiinide tekkimise tingimuste ja riskide vältimise
selgitamine odral**

Projekti juht: Heino Lõiveke
Projekti täitjad: Elina Akk
Risto Tanner
Mary-Liis Kütt

Saku 2015

PROJEKTI LÕPPARUANNE⁵

1. PROJEKTI NIMETUS: Vähetuntud toksine tekitavate hallitussente nomenklatuuri täpsustamine, toksiinide tekkimise tingimuste ja riskide vältimise selgitamine odral

2. PROJEKTI NIMETUS INGLISE KEELES: Identification of few known toxin producing moulds, the conditions of originate and prevention of hazards in Estonian spring barley

3. PROJEKTI KESTUS	Algus: 2012	Lõpp: 2014
---------------------------	-----------------------	----------------------

PROJEKTI LÕPPARUANDE PÕHIOSA:

PROJEKTI TAUST

Nii maailmas kui Eestis on uuritud hallitussente liike peamiselt tali- ja suviniisul, vähem aga odral. Samas on oder Põhjamaade tingimustes just üks enam kasvatatavaid põllukultuure. Oder on oluline toidukultuur, sellest valmistatakse kruupe, tangu ja jahu ning on asendamatu loomade jõusööda koostises. Eestis on suviadra kasvupind keskmiselt 137789 hektarit (Faostat, 2009), mis moodustab ligi 45% teravilja üldpinnast (pub.stat.ee, 2011). Toidu- ja söödaohutuse seisukohast on oluline, et kasvatatud oder oleks puhas hallitussente poolt toodetud mükotoksiinidest. Eestis on aga sagedane, et teraviljade kasvuperioodi teine pool on sademeterohke, mis omakorda loob soodsa keskkonna hallitussente arenguks teradel. Odra terade mikrobioloogias vajavad kõige olulisemat tähelepanu mükotoksiine tootvad hallitussente liigid neljast seeneperekonnast: *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium* ja *Aspergillus* (Mateo et al., 2004). Trihhotetseenid, eelkõige DON, T-2 ja HT-2 toksiinid, on rühm toksine, mille esinemine teraviljades on suureks probleemiks kogu maailmas, kuid mille esinemise kohta Eestis toodetud odras on andmeid napilt. Trihhotetseene (DON, HT2, T2) teraviljas toodavad perekonna *Fusarium* paljud liigid (Miller, 2002; Suproniene et al., 2010). On teada, et mükotoksiine DON (vomitoksiin), NIV (nivalenool) produtseerivad *Fusarium* liigid *F. graminearum*, *F. culmorum* ja *F. cerealis*, kuid sama perekonna liigid *F. langsethiae*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum* toodavad nii toksine T-2, HT-2 kui ka enniatiine (Sorensen 2009, Eskola et al. 2001). Eelnimetatud toksigeensetest *Fusarium* liikidest on meil kõige vähem teavet just *F. graminearum* ja *F. langsethiae* esinemise kohta Eesti teraviljas, sealhulgas ka odras.

Fusarium liikide ja nende toksiinide tekkimine põllutingimustes on suuresti sõltuv õitsemise ja valmimise aegsest ilmastikust – sademete rohkus sellel ajal soodustab nakatumist *Fusarium* liikidega ja toksiinide teket terades (Lõiveke, 2008, 2010; Mankevičiene et al., 2011). *Fusarium* jt hallitussente arengu takistamiseks põllutingimustes on andnud sageli positiivset efekti, eriti nisudel, fungitsiididega pritsimine õitsemise perioodil või kohe selle järgselt (Suty-Heinze, Dutzman, 2004; Lõiveke, 2008; McMullen, 2012). Viljapeadel fusarioosi intensiivsuse, teradel hallitussente arvukuse ja toksiinide taseme vahel on tuvastatud positiivsed seosed mitmete teadlaste poolt (Dill-Macky, 2010; Mesterhazy et al., 2011; Nakajima, 2010). Nendest lähtudes on fungitsiidide kasutamine otstarbekas. Meie varasematel uurimustel ja kirjanduse andmetel oleks Eesti oludes teradel hallitussente arengu

ja toksiinide tootmise mahasurumisel efektiivsemateks osutunud fungitsiidide katsetamist vajalik täpsustada ka odral. Kuna erinevalt nisust enamuse odrasortide bioloogiliseks iseärasuseks on õitsemise kinniste õitega. Samuti ei ole samad preparaadid olnud nisul ja odral võrdse efektiivsusega.

Ka erinevad lämmastikukogused mõjutavad hallitusseente, sealhulgas *Fusarium* seente, levimist teradel. Uuringute tulemused mujal maailmas on vastuolulised. Nende tulemustes järeldub, et kõrged lämmastikufooned soodustavad teraviljasaagi *Fusarium* seente ja nende mükotoksiinidega saastumist, teistes jälle järeldub, et hoopis madalatel lämmastikufoonidel kasvatatud teraviljasaagis on hallitusseentega ja mükotoksiinidega saastumine suurem kui kõrgetel lämmastikufoonidel kasvatatud teraviljade saagis (Champeil et al., 2004; Yang et al., 2010).

Mahe- ja tavaviljeluses kasvatatud teravilja kvaliteedi kohta on samuti vastakaid arvamusi. Sageli väidetakse, et mahevili võib olla enam hallitusseentega ja mükotoksiinidega saastunud kui tavaviljelusviisil kasvatatud vili. Selle väite uurimiseks otsustasime koguda odraproove ka ETKI Jõgeva odra sordivõrdluskatsetest.

Hallitusseened perekonnast *Aspergillus* ja *Penicillium* on ohratoksiini jt toksiinide tekitajad just teravilja ladustamise ajal (Kuiper-Goodman and Scott, 1989; Niessen et al., 2005), seega on väga oluline luua ladustamise perioodil tingimused, mis võimalikult efektiivselt pidurdaks hallitusseente arengut ja väldiks toksiinide teket.

EESMÄRGID:

1. Selgitada *Fusarium* seente ja seni veel vähemtähtsaks peetud hallitusseente liikide ning nende produtseeritavate mükotoksiinide esinemist odra terasaagis.
2. Selgitada erinevate lämmastiku normide ja fungitsiidide kasutamise mõju hallitusseente liikide esinemise sagedusele ja kooslusele ning mükotoksiinide esinemisele odrasaagis.
3. Saada võrdlevat teavet tava- ja maheviljelusviisi mõjust olulisemate hallitusseente liikide esinemise sagedusele ja nende produtseeritavate põhiliste toksiinide sisaldusele odras.
4. Selgitada odra säilitamise ja käitlemise protsessis mikrobioloogiliste ja toksikoloogiliste kvaliteedinäitajate muutusi.
5. Koostada saadud tulemuste põhjal soovitusel hallitusseente ja mükotoksiinide esinemise vähendamiseks ja vältimiseks odral tava- ja mahetootmise tingimustes kasvatamiseks ja säilitamiseks.
6. Saada vajalikud uurimistulemused **Elina Akk'i** doktoritöö „Mõningate agroökoloogiliste tegurite mõju teravilja saastumisele hallitusseentega” koostamiseks. Juhendajad **Heino Lõiveke** (ETKI) ja **Enn Lauringson** (EMÜ).

EESMÄRKIDE TÄITMISEKS TOIMUNUD TEGEVUSED JA METOODIKA

Põldkatsete meetoodika:

Eesti Taimakasvatuse Instituudi katsealale Kõbu aias rajati kaks katset. Katseala mullastik oli gleistunud küllastunud kamarmuld. Odral arvestati külvisenormiks 550 idanevat tera ruutmeetrile. Katselapi suuruseks oli 25 ruutmeetrit ja kõik variandid olid neljas korduses. Umbrohutõrjeks kasutati herbitsiidi MCPA kulunormiga 1,2 l ha⁻¹.

1. Katse erinevate lämmastikunormide mõju selgitamiseks *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus* ja *Penicillium* liikide ja toksiinide (DON, HT2, T2 ja ohratoksiinA) esinemisele saagis Katsevariante oli neli: 1) külviga N 40 kg ha⁻¹ ja kasvuajal N juurde ei antud; 2) külviga N 40 kg ha⁻¹ ja kasvuajal anti juurde ammooniumsalpeetrit normiga N 40 kg ha⁻¹; 3) külviga N 40 kg ha⁻¹ ja kasvuajal anti juurde ammooniumsalpeetrit normiga N 80 kg ha⁻¹; 4) külviga N 40 kg ha⁻¹ ja kasvuajal anti juurde ammooniumsalpeetrit normiga N 120 kg ha⁻¹ (kahes jaos).

2012. aastal külvati katse 23. mail. Katses kasvatati otra 'Anni' ja samaaegselt seemnekülviga anti kompleksväetis 18-18-18 kogusega 222 kg ha⁻¹. Pealtväetisena anti ammooniumsalpeeter 22. juunil ning 4nda variandi teine pealtväetamine tehti 29. juunil. Umbrohutõrje tehti 24. juunil.

2013. aastal külvati oder 'Maali' 15. mail. Seemnekülviga anti kompleksväetis 15-15-15-9S normiga 200 kg ha⁻¹. Umbrohutõrje tehti 3. juunil. Ammooniumsalpeeter pealtväetisena lisati 5. juunil ja 4nda variandi teine pealtväetamine tehti 25. juunil.

2014. aastal külvati katse 19. mail. Katses kasvatati odrasorti 'Maali' ja samaaegselt seemne külviga anti kompleksväetis 15-15-15-9S koguses 200 kg ha⁻¹. Umbrohutõrje tehti 4. juunil. Ammooniumsalpeeter pealtväetisena lisati 11. juunil ja 4nda variandi teine pealtväetamine tehti 19. juunil.

2. Fungitsiididega katse selgitamiseks *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus* ja *Penicillium* liikide ja toksiinide (DON, HT2, T2 ja ohratoksiinA) esinemist saagis Fungitsiididega pritsimisvariandid olid: 1) pritsimata; 2) Folicur 1,0 l ha⁻¹ (toimeaine 250 g l tebukonasool); 3) Falcon Forte 1,0 l ha⁻¹ (toimeained 53 g l⁻¹ protiokonasool, 224 g l⁻¹ spiroksamiin, 148 g l⁻¹ tebukonasool); 4) Archer Top 400 EC 0,8 l ha⁻¹ (toimeained 275 g l⁻¹ fenpropidiin ja 125 g l⁻¹ propikonasool).

2012. aastal rajati katse 23. mail. Katses kasvatati sorti 'Anni'. Koos külviga anti mulda kompleksväetis 18-18-18 koguses 222 kg ha⁻¹. Lämmastikuga pealväetamiseks anti 22. juunil ammooniumsalpeetrit arvestades toimeaines N 80 kg ha⁻¹. Umbrohutõrje tehti 24. juunil. Fungitsiididega pritsiti 27 juuli.

2013. aastal rajati katse 15. mail. Katses kasvatati sorti 'Maali'. Koos külviga anti mulda kompleksväetis 15-15-15-9S koguses 200 kg ha⁻¹. Pealtväetisena anti 5. juunil ammooniumsalpeetrit normiga N 80 kg ha⁻¹. Fungitsiididega pritsiti 9. juulil.

2014. aastal külvati 19. mail. Katses kasvatati sorti 'Maali'. Koos külviga anti mulda ka kompleksväetis 15-15-15-9S koguses 200 kg ha⁻¹. 11. juunil pealväetati taimi ammooniumsalpeetriga normiga N 80 kg ha⁻¹. Umbrohutõrje tehti 4. juunil ja fungitsiididega pritsiti 21. juulil.

Põldkatsed koristati käsitsi 4x25 m² igalt katselapilt. Lapsaagid kuivatati, sorteeriti, kaaluti ja koostati variantide alusel keskmised teraproovid. Igast variandist analüüsiti hallitusteente arvukus, uuritavate liikide kooslus ja mükotoksiinide (DON, HT2 ja T2, ohratoksiin A) sisaldused kolmes korduses.

3. Kuivatikatse

Kahel aastal kuivatikatse rajamine ebaõnnestus – 2012.a. Kõbu katsealal saak ikaldus liigniiskuse tõttu (üleujutus koristusperioodil). Kuna katset rahastati eelmisel aastal teistest projektidest, mille rahastamine lõppes, siis 2013.a. ei olnud katset enam võimalik läbi viia.

2014. aastal kuivatikatse jaoks kasvatati vili Jõgeva katsealal. Odra säilituskatse mahe- ja tavaviljelusest pärit odraga rajati ETKI Saku laohoonesse sordiga 'Anni'. Katse kestis oktoobrist kuni märtsini ja selle perioodi jooksul võeti iga kuu teraproovid, et analüüsida terade hallitusteente koosluse, mükotoksiinide (DON, HT2, T2) ning proteiini ja tärklise sisalduse dünaamikat. Mõlemas variandis oli võrdluses 150 kg puhastatud ja sorteeritud vilja, mis oli pakendatud ca 25 kg kottidesse.

4. Tava-ja maheviljeluses odra sortide võrdlus Jõgeval

Kolme aasta jooksul võeti teraproovid mahe- ja tavaviljelusviisil kasvatatud odrasortide võrdluskatsetes ETKI Jõgeva katsealal. 2012 aastal oli uuringus 14 sorti, aastatel 2013 ja 2014 - 12 sorti ('Anni', 'Flavoure', 'Hennike', 'Inari', 'Iron', 'Leeni', 'Maali', 'Olof', 'Propino', 'Publican', 'Streif' ja 'Tamtam'). 2012.a. olid lisaks veel sordid 'Amber' ja 'Honey'. Odraproovides selgitati *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus* ja *Penicillium* liikide kooslust teradel ja mükotoksiinidega (DON, HT2 ja T2) saastumist. ETKI Jõgeva katseala mullastik oli leostunud kamar-karbonaatmuld. Katseid Jõgeval korraldas ja proovid kogus teadur Ülle Tamm, PhD.

Laboratoorsete uuringute metoodika

Proovid mikrobioloogilise ja toksikoloogilise kvaliteedi analüüsiks koguti katsetest vastavalt keskmise proovi koostamise nõuetele, kuivatati 13% niiskusesisaldusele, säilitati +4°C juures ja analüüsiti koristamisest 6–10 kuu möödudes. Kvaliteedi (proteiin ja tärklis) näitajad kuivatikatses jaoks määrati Eesti Taimekasvatuse Instituudi Jõgeva laboris.

Odra teraproovides hallituseente ja mükotoksiinide määramised tehti ETKI Saku laboris kasutades mikroskoopi, gaaskromatograafi koos massispektromeetriga, vedelikkromatograafi UV detektoriga. Hallituseente määramiseks asetati igast proovist 100 tera selektiivsöötmele CZID kasvama. Hallituseeni kasvati Petri tassidel 20 kraadi juures 7 päeva. Seejärel isoleeriti väljakasvanud hallituseened PDA söötmele, millel neid kasvatati 7 päeva 25 kraadi juures. Et tagada isolaatide puhtus ja vältida liikide segunemist, külvati isolaadid teist korda PDA söötmele. Sellel kasvatati isolaate 14 päeva. Hallituseente liigiliseks määramiseks kasutati mikroskoopi ning määrajaid Leslie ja Summerell (2006) ning Watanabe (2002) - The Fusarium Laboratory Manual, Watanabe, T. 2002. Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species.

Mükotoksiinid DON, HT2 ja T2 analüüsiti Soome Põllumajandusuuringute Instituudi (MTT) trihhotetseenide analüüsimeetodika järgi (I. Saastamoinen, H. Saloniemi. 1997. Quantification and confirmation of trichothecenes by gas chromatography - mass spectrometry - selected ion monitoring. 9th Int. Congress in Animal Hygiene ISAH'97, 17–21 Aug. 1997, Helsinki, Finland. Proceedings v.2, Ed. H. Saloniemi, University of Helsinki, Helsinki 1997, pp. 431–434).

DON määramispiirid madalale kontsentratsioonile olid 73,5–262,5 µg kg⁻¹ ja keskmisele kontsentratsioonile 525,0–2100,0 µg kg⁻¹. HT2 määramispiirid madalale kontsentratsioonile oli 74,25–265,1 µg kg⁻¹ ja keskmisele kontsentratsioonile 530,3–2121 µg kg⁻¹. T2 määramispiirid madalale kontsentratsioonile olid 73,5–262,5 µg kg⁻¹ ja keskmisele kontsentratsioonile 525,0–2100,0 µg kg⁻¹. Mükotoksiinide analüüsid tehti kõikidest proovidest kolmes korduses.

Ohratoksiini analüüsiks ettevalmistusel lähtuti firma Romer Labs, Austria, standardprotokollist asjakohase adsorbenditehnoloogia juurde, nii nagu sama firma metoodikast lähtus ka algallikas trihhotetseenide analüüsil. Ohratoksiini A (OTA) lõppanalüüsil oli eeskujuks samuti firma Romer Labs soovitus. Hoolikalt eelnevalt segatud teraviljaproovidest võetud väljavõtted kaaluga 75–80 g jahvatati laiatarbe kohviveskis peeneks jahuks, sellest kaaluti välja täpsed kogused jahu kaaluvahemikus 24,9 ... 25,1 g, lisati 100 ml aseotroopset segu mahuvahekorras atseetonitriil 84 osa + vesi 16 osa, suleti õhukindlalt klaaspurki ja loksutati intensiivselt mehhaanilisel loksutil 2 tundi. Pärast seda lasti ca 15 minuti jooksul tahketel osadel settida ja selginenud ekstraktist pipeteeriti väljavõtted firma Romer Labs spetsiaalsetesse katsutitesse ja toimiti järgnevalt: katsutisse pipeteeriti eelnevalt 70 ul äädikhapet 2 korda. Lisati 7 ml prooviekstrakti ja segati edasi-tagasi pipetti tõmbamisega 2 korda. Katsutisse suruti Mycosept kolb adsorbendiga ja filtreeriti katsuti sisu läbi adsorbendi. 4 ml filtraati pipeteeriti aurustamiskatsutitesse, aurutati kuivaks N₂ voolus

temperatuuril 40 °C, katsuti suleti korgiga ja säilitati kuni analüüsini külmikus temperatuuril – 18 °C.

Ohratoksiini analüüs tehti Firma Perkin Elmer kromatograafiasüsteemil “Series 200” koosseisus kvaternaarse madalrõhugradiendiga kõrgsurvepump, kolonni termostaat, spektrofotomeetiline diodrividetektor ja asjakohane integreeritud tarkvarakomplekt TotalChrom v.1 + TurboScan. Kromatograafiakolonn oli Kinetex C18, 150 x 4,6 mm ID, 2,6 µm, 100Å koos eelkolonniga AJO-4287, C18 4 x 3 mm ID, mõlemad firmalt Phenomenex, USA. Selle süsteemi täiendusena juhti UV-detektori väljavool lisa detektorisse FluoroMonitor III (firma LCD, USA) ergastamisega lainepikkusel Ex 360-370 nm ja mõõtmisega lainepikkusel Em 418-700 nm. Florimeetri analoogformaadis väljundisignaal registreeriti isekirjutajaga R2-201C, (Yanaco, Jaapan), seda kromatogrammi töödeldi integraatoriga System 1000 (Janaco, Jaapan). Kõik kromatogrammid registreeriti ka kogu UV lainepikkuste vahemikus 200 – 400 nm sammuga 1 nm pilu laiusega 10 nm ja integreeriti lainepikkustel 327 ja 280 nm.

Metoodika kalibreerimiseks kasutati firma Sigma-Aldrich etalonainet.

Kogu viaali sisu 5 mg lahustati 4 ml metanoolis ja alglahusest tehti lahjendused kromatograafia algeluendiga kuni lõppkontsentratsioonini 0,125 µg/ml. Seda segati eelpuhastatud ja eelnevalt OTA sisaldusele kontrollitud OTA-vabade odraproovide süstelahustega sellise arvestusega, et OTA lõppkontsentratsioon imiteeriks sisaldusi algproovis vahemikus 1 – 10 µg/kg (0,2 – 2 lubatud piirkontsentratsiooni). Kaliibrimiskõvera kordaja ja OTA-le vastava piigi integreeritud pindala põhjal arvutati siis OTA lõppkontsentratsioonid proovides, kus seda leiti.

Statistiline andmetöötlus

Kõik põldkatsete ja laboris saadud analüüsides tulemused töödeldi R-tarkvara ja MS Excel2003 keskkonnas. Saakide võrdlemisel kasutati t-testi, kus usalduspiiriks oli $p < 0,05$. Uuritavate faktorite mõju hindamiseks hallitussente, sealhulgas *Fusarium* spp., esinemissagedusele kasutati samuti t-testi, usalduspiir oli $p < 0,05$. Mükotoksiinide analüüsi tulemusi võrreldi t-testiga, usalduspiiriks $p < 0,05$.

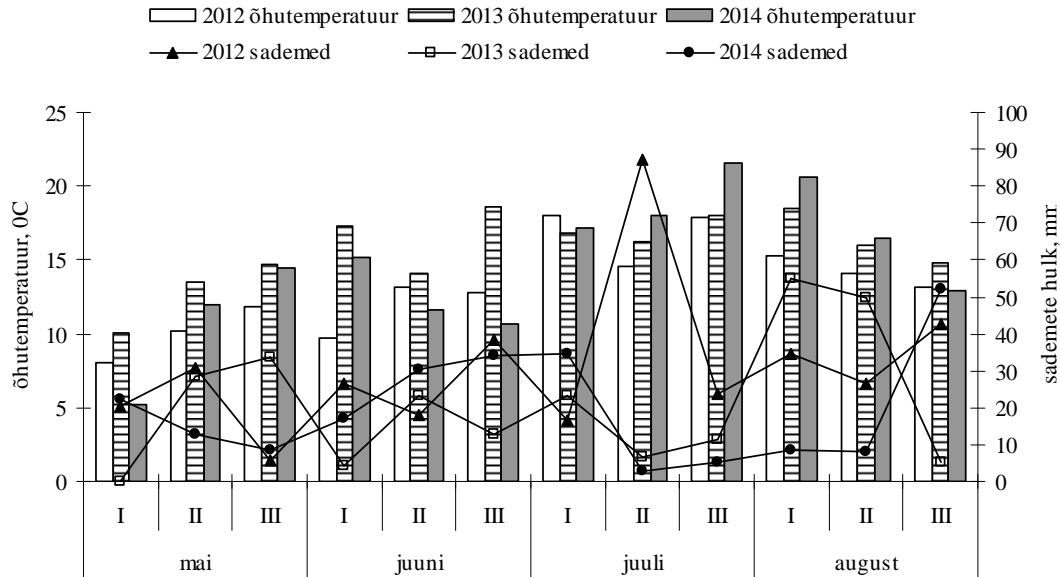
Kasvuaja ilmastik katseaastatel

Andmed ilmastiku kohta 2012–2014 aastatel koguti ETKI ilmajaamast Põhja-Eesti Üksnurme katsealalt. Üksnurme katseala ja Kõbu katseala vahemaa on 1 km. Jõgeva katse ilmastiku kohta saime 2012 ja 2013 aastal suulist infot teadurilt Ülle Tamm ning 2014 aasta kasvuaegse ilmastiku kirjelduse ETKI agrometeoroloogilt Laine Keppart. Katseaastate ilmastik kujunes erinevaks (Joonis 1).

2012. aasta ilmastik Põhja-Eestis oli liigniiske ja jahe. Taimede kasvuajal maist kuni septembrini oli õhutemperatuur keskmiselt ühe kraadi võrra jahedam kui paljude aastate keskmine (30 aasta). Aastat iseloomustas liigniiskus. Odra õitsemise ja küpsemise ajal, juuli II dekaadist kuni augusti II dekaadini, sadas 171,6 mm vihma ning kogu vegetatsiooni perioodi (arvestati maist kuni augustini) sademete summa oli 484 mm.

2013. aasta ilmastik Põhja-Eestis oli vastand 2012. aasta jahedale ja sajusele kasvuperioodile. 2013 aastal oli maikuust kuni septembri alguseni õhutemperatuuride summa 7,5°C võrra kõrgem kui pikaajaline keskmine (55,3 °C). Sademete hulk jagunes ebaühtlaselt. Juuli II dekaadist kuni augusti II dekaadini sadas 123,4 mm vihma ja odra kasvuperioodil sademete summa oli 254 mm.

2014. aasta kasvuperiood Põhja-Eestis Üksnurmes oli 1,6 kraadi võrra soojem kui pikaajaline keskmine. Odra kasvuperioodil sadas vihma 236 mm ning juuli II dekaadist kuni augusti II dekaadini oli sademete summa 24,6 mm.



Joonis 1. 2012–2014 aasta kasvuperioodi keskmised õhutemperatuurid ja sademete hulk dekaadide kaupa Põhja-Eestis Üksnurmes.

PROJEKTI TULEMUSED

Saagikus

2012. aasta jaheda suve ja liigvee tõttu jäid saagid madalaks. Odra lämmastikväetamisega katses andis suurima (1970 kg ha^{-1}) saagi neljas variant, ehk variant, kus lämmastikväetist oli antud 160 kg ha kohta. Sarnane terasaak saadi ka kolmandast variandist- N120 (1934 kg ha^{-1}). Kõige madalama saagikusega oli koos seemnekülviga väetatud oder (variant N40).

Fungitsiididega katses oli suurima saagikusega oder, mida pritsiti Folicuriga. Madalam oli saagikus fungitsiidiga pristimata variandis. Kuid statistilised erinevused variantide vahel puudusid.

2013. aasta saagid olid 2012. aastaga võrreldes head. Odra lämmastikväetamisega katses jäid variantide saagikused 4550 ja 4624 kg ha^{-1} vahemikku. Saagikus oli üsna ühtlane kõikide variantide puhul. Madalam saagikus oli N40 variandis – 4550 kg ha^{-1} . Kõrgema saagikusega oli N120 variant – 4624 kg ha^{-1} . Variandis N160 jäi saagikus madalamaks kui N120 variandis. Põhjuseks oli, et koristamise ajaks oli N160 variandis oder lamandunud ja seega koristamisel kaod suuremad kui teistes, madalama lämmastiku normiga, variantides.

Fungitsiidide võrdluse katses, kus lämmastiku foon oli kogu katse ulatuses N80, jäid saagid 3738 – 4198 kg ha^{-1} vahemikku. Kuigi veidi kõrgeima saagi andis Folicuriga pritsitud variandi oder, puudusid statistiliselt usutavad saagierinevused variantide vahel.

2014. aastal odra lämmastikväetamisega katse keskmine saagikus oli 4008 kg ha^{-1} . Madalam saagikus oli N40 variandis – 3194 kg ha^{-1} . Kõrgema saagi andis N120 variant – 4722 kg ha^{-1} . Variandis N160 jäi saagikus 518 kg võrra madalamaks kui N120 variandis. Sellise saagivahe põhjustasid taimede lamandumine ja peades kasvama läinud terade kadu N 160 variandis. Kõrge lämmastikunormi juures, nagu N 160, lamandusid kõik kordused 100% katselapi ulatuses.

Erinevate fungitsiididega pritsimise katses, kus lämmastiku foon oli kogu katse ulatuses N80, oli katse keskmine saagikus 4280 kg ha^{-1} . Statistiliselt usutavad saagierinevused variantide vahel puudusid.

Hallitusseente kooslus suvioidras

Hallitusseente liigiline kooslus kujunes aastate lõikes erinevaks. Kasvuäegne ilmastik mõjutas väga tugevasti hallitusseente liigilist kooslust. Niiskel ja jahedal 2012. aastal esines odrateradel valdavalt (ehk 98%–100% teradel) tumeda värvusega *Phoma*, *Alternaria*, *Cladosporium* perekondade esindajaid. Järgneval kahel katseaastal, kui ilmastikutingimused olid kasvuajal soojemad ja sademete jaotus soodsam, tuvastasime rohkem *Fusarium* liike ja mustade hallitusseente osa vähenes kuni 35%. Mustadest hallitusseentest olid kõige enam levinud *Alternaria tenuissima*, *Epicoccum nigrum* ja *Cochliobolus sativus*. *Fusarium* liikidest tuvastasime odrateradel liike *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. culmorum* ja *F. poae*. Kolme aasta keskmisena esines 65% teradel musti hallitusseeni ja 4,5% teradel *Fusarium* spp. Hallitusseente liike perekonnast *Penicillium* ja *Aspergillus* teradel ei tuvastatud.

Erinevate lämmastiku koguste mõju hallitusseente kooslusele

Erinevate lämmastiku foonide mõju uuritavate hallitusseente kooslusele puudus. Kuigi leidsime nõrga seose, et foonil N120 oli *Fusarium* seente arvukus madalam võrreldes teiste variantidega (N40, N80 ja N160). Statistiliselt usutava seose leidsime kõrgete lämmastikufoonide puhul (nagu N120 ja N160), milledes esines musti hallitusseeni 12% võrra vähem kui madalate (N40 ja N80) lämmastikufoonide korral.

Erinevate fungitsiidide mõju hallitusseente kooslusele

Kolme katseaasta tulemuste põhjal jäi fungitsiidide mõju hallitusseente kooslusele nõrgaks ja statistiliselt usutavaid erinevusi ei olnud. Erinevatel katseaastatel tuvastasime ka fungitsiidide efektiivset mõju. Näiteks 2012. aastal, ilmastiku poolest hallitusseente arenguks väga soodsates tingimustes (rohkelt sademeid), mõjutas pritsimine fungitsiididega odraterade hallitusseente liigilist kooslust odrateradel. Mitme toimeainega fungitsiidiga Falcon Forte pritsimisega vähenes tumedate põlluseente (*Phoma* spp., *Alternaria* spp., *Epicoccum* spp jt) esinemine 5% võrra ja *Fusarium* spp. arvukus 3% võrra võrreldes teiste pritsimisvariantidega. Kõikide fungitsiidide kasutamine vähendas ka mustade hallitusseente hulgas liigi *Epicoccum nigrum* esinemist teradel. Katseaastatel 2013 ja 2014 paraku fungitsiididel mõju ei esinenud.

Mahe- ja tavaviljeluse ning odrasortide (12 sorti) mõju hallitusseente kooslusele

Viljelusviis mõjutas mustade hallitusseente esinemist odrateradel ning seos oli statistiliselt usutav. Mustade hallitusseente üldine esinemine oli maheviljelusest pärit odras 28% võrra kõrgem kui tavaviljelusest pärit odras. Ilmselt viitas see asjaolu õitsemise aegsele fungitsiidide kasutamise (mida tavaviljeluses tehti ja mahedas mitte) otsesele ja väga tugevale mõjule terade epifüütse mikrofloora kujunemisel.

Meie uuringutes selgus, et viljelusviis *Fusarium* seentega nakatumist ei mõjutanud. Aasta kasvuaja ilmastiku mõju oli tugevam. Sellest järeldub, et *Fusarium* seentele soodsal aastal oli nende esinemine kõrge nii tava- kui maheviljelusest pärit odras, ning kui aasta kasvuäegne ilmastik *Fusarium* seentele soodne ei olnud (nagu 2014. aastal), siis oli nende esinemine võrdselt madal nii mahe- kui tavaviljelusest pärit odral.

Sordilisuse (12 sorti) otsest mõju *Fusarium* seente esinemisele odra mahe- ja tavaviljeluses kasvatamisel ei ilmnenud. Kuid ilmnes, et maheviljeluses kasvatatud sordil 'Hennike' ei esinenud mitte ühtegi *Fusarium* liiki. Samal sordil esines ka tavaviljeluse tingimustes 4% vähem *Fusarium* spp. kui kogu sortide võrdluse keskmiselt. Odrasortidel 'Flavour' ja

‘Propino’ esines musti hallitusseeni sagedamini just maheviljeluses kasvatamisel, vastavalt 60% ja 47% võrra rohkem kui tavaviljeluses kasvatatud samadel sortidel.

Odra säilitustingimuste mõju hallitusseente kooslusele ja tera kvaliteedile

Odra säilitamise perioodil olulisi muutusi hallitusseente liigilises koosluses ei toimunud. Ka siin olid terad nakatunud enam mustade hallitusseente liikidega. *Penicillium* ja *Aspergillus* liike ei tuvastatud. *Fusarium* spp. kasvas välja detsembris võetud proovides. *Fusarium* tuvastati nii mahe- kui tavaodras 4% teradel.

Tärglise-ja proteiinisaldus püsisid kogu säilitusperioodi vältel stabiilsed ja ei muutunud. Tavaodras oli tärglisesisaldus kogu perioodi jooksul keskmiselt 63,5% ja maheodras 63,8%. Proteiinisaldus oli tavaodras 10,8% ja maheodras 10,3%.

Mükotoksiinide (DON, HT2, T2 ja ohratoksiin A) esinemine suviodras

Erinevate lämmastiku koguste mõju trihhotetseenide DON, HT2 ja T2 ning ohratoksiin A esinemisele ja kogustele

Kõikidel aastatel esines odraproovides toksiine allapoole määramispiire (määramispiirid olid DON 73,5, HT2 74,2 ja T2 73,5 µg kg⁻¹). Erinevad lämmastiku kogused mõjutasid kolme uuritava toksiini esinemist odras. Kolme aasta tulemused viitasid, et toksiini DON esines sagedamini lämmastiku foonidel N80 ja N160, toksiine HT2 ning T2 leiti sagedamini N80 variantidest. Kuigi nende toksiinide esinemine jäi allapoole määramispiire, olid erinevused variantide vahel statistiliselt usutavad. Ohratoksiini A leiti 2012 kõikidest lämmastikuga väetatud variantidest, kuid sisaldused olid väikesed ja statistiliselt usutavad erinevused variantide vahel puudusid. Meie tulemustest võib järeldada, et optimaalne lämmastikuga väetamine omab olulist rolli toksiinidega saastumise vältimiseks. Liiga madalad, nagu meie katses N40 ja N80, või kõrged, nagu N160, suurendavad toksiinide tekkimise riske odraterades.

Katse tulemustele avaldas tugevat mõju kasvuperioodi ilmastik. Seejuures selgus, et ilmastiku mõju esines ainult toksiinile DON. Jooniselt 1. (vt eespool) selgub, et odra õitsemise ja küpsemise perioodil juuli II dekaadist kuni augusti II dekaadini esines sademeid katseaastati erinevalt. Kui 2012 aastal ja 2013 aastal tuli sademeid nimetatud perioodil 171,6 ja 123,2 mm, siis 2014 aastal ainult 24,6 mm. Toksiini DON esines 2012 ja 2013 aastal kõikides proovides, kuid 2014 aastal vaid 50% proovides. Tulemused olid statistiliselt usutavad.

Tulemuste põhjal järeldasime, et kõrge õhuniiskuse ja sademetega periood juuli II dekaadist kuni augusti II dekaadini tõstab toksiiniga DON saastumise riske madalatel (N40, N80) ja liiga kõrgetel (N160) lämmastikufoonidel kasvatatud odras. Toksiinide HT2 ja T2 puhul sellist seost ei leitud.

Fungitsiididega pritsimise mõju trihhotetseenide DON, HT2 ja T2 ning ohratoksiin A esinemisele ja kogustele

Fungitsiididega pritsitud variantide odras esines toksiine vähem kui pritsimata variantide odraproovides. Seos oli statistiliselt usutav. Kolme aasta tulemuste võrdluses selgus, et odras, mida oli pritsitud mitme toimeaine sisaldusega fungitsiididega Falcon Forte ja Archer Top, esines vähem toksiini DON. Samas ühe toimeainega fungitsiidiga Folicuriga pritsitud ja pritsimata variandi vahel erinevused puudusid. Seega osutusid toksiini DON tekkimisele pärssivalt just mitme toimeainega preparaadid. Kuid toksiinidele HT2 ja T2 esinemisele odras erinevate fungitsiidide mõju puudus. Fungitsiididega pritsimine vähendas ohratoksiin A

esinemist pritsitud variantides. Eestis on ohratoksiin A piirmääraks töötlemata teraviljas $5 \mu\text{g kg}^{-1}$. Põhja-Eesti katsetest lämmastikuga ja fungitsiididega töödeldud variantides leidsime ohratoksiini A odraterades vahemikus $1,0\text{--}2,8 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Erinevate toimeainetega fungitsiididega pritsimise katses mõjutas kasvuaja ilmastik toksiinide DON ja HT2 esinemist odras. 2013 aastal olid toksiinidega DON saastunud kõik variandid. Toksiini HT2 leiti enam 2012 aasta proovidest ning 2014 aasta proovides toksiini T2. Järeldasime, et tagasihoidliku lämmastikufooniga (N80) erinevate fungitsiididega pritsitud odrale mõjus kasvuaja ilmastik toksiinide tekkimisele odras erinevalt. Toksiini HT2 tekkimist odras soodustas jahe ja niiske kasvuperiood, soe ja niiske kasvuperiood soodustas toksiini DON tekkimist teradesse. Kuiv ja soe kasvuperiood lõi soodsad tingimused toksiini T2 tekkeks odrateradesse. Selle katsega selgus, et ilmastiku mõju oli odra toksiinidega saastumisele tugevam kui fungitsiididega pritsimise mõju. Hallitussente arengule soodsal aastal (jahe ja niiske kasvuperiood) fungitsiidide õitsemisaegne kasutamine mükotoksiinide esinemise vähendamiseks on üldiselt efektiivsem.

Odra säilitustingimuste mõju trihhotetseenide DON, HT2 ja T2 esinemisele ja kogustele

Odra säilitusperioodi (oktoober-märts) vältel terade mükotoksiinide sisalduses toimusid muutused. Perioodi jooksul tekkis nii tava- kui maheodra teradesse toksiin DON. Kui säilitusperioodi alguses (oktoobris) oder toksiine DON, HT2 ja T2 ei sisaldanud, siis novembris tuvastasime toksiini DON nii tava- kui maheodra proovides. Toksiinide sisaldused olid tavaodras $81,22$ ja maheodras $74,21 \mu\text{g kg}^{-1}$. Jaanuariks oli toksiini DON sisaldus vähenenud ja analüüs näitas vaid jääke. Toksiini DON jääke näitas ka säilitusperioodi lõpus, märtsis, võetud analüüs. Toksiine HT2 ja T2 katseperioodi jooksul odrateradesse ei tekkinud.

Säilitusperioodi jooksul mõõdeti odraterade niiskuse, laoruumi õhutemperatuuri ja -niiskuse näitajad. Kuigi odraterade niiskuse ja laoruumi õhuniiskuse muutuste vahel esines nõrk seos, siis väga tugev seos leiti odraterade niiskuse ja laoruumi õhutemperatuuri muutuste vahel. Säilitusperioodi alguses oli odraterade niiskus keskmiselt $12,6\%$ ja see tõusis perioodi lõpuks $14,4\%$ ni. Õhuniiskus muutus perioodi jooksul $71\text{--}100\%$ ni. Õhutemperatuur kõikus vahemikus $+12^{\circ}\text{C}$ langedes kohati -6°C .

Tulemuste põhjal väidame, et odra talvine säilitusperiood oli üheks toksiinidega saastumise riski soodustavaks teguriks. Säilitusperioodi jooksul toimusid odraterades hallitussente kasvamisega seotud muutused, mis olid põhjustatud laoruumis õhutemperatuuri ja -niiskuse muutustest. Järeldasime, et odra säilitusperioodi jooksul seoses temperatuuri ja õhuniiskuse muutustega tekib terades soodne keskkond mükotoksiinidega saastumiseks. Meie katses tekkis säilitatavasse otra toksiin DON.

Toksiinide sisaldused mahe- ja tavaviljeluses kasvatatud odrasortide võrdluses

Sordilisuse mõju avaldus koos viljelusviisi mõjuga kahel sordil. Maheviljelusest pärit sordil 'Maali' esines sagedamini toksiini T2 kui tavaviljelusest pärit sordil 'Maali'. Odrasordil 'Olof' esines tavaviljelusest pärit saagis sagedamini toksiini DON. Mõlema sordi puhul oli seos statistiliselt usutav. Teiste sortide puhul mahe- ja tavaviljelusviisi mõju toksiinidega saastumisele puudus. Nende tulemuste põhjal võime väita, et mahe- ja tavaviljelusviisi mõju odrasaagi saastumisele on küll madal, kuid mõned sordid võivad olla vastuvõtlikumad terades toksiinide tekkele.

Võrreldes odra toksiinidega saastumist sortide tasandil, selgus et sordid 'Tamtam' ja 'Publican' on mükotoksiinidega saastumisele vastuvõtlikumad. Nende sortide saakides leidsime sagedamini uuritavaid toksiine kui teiste odrasortide puhul.

Kõige tugevamat mõju avaldas katseaastate ilmastik. Uuritavaid toksiine esines kõige rohkem 2012. aasta ja kõige vähem 2013. aasta saagis.

Ka ohratoksiin A esinemine sõltus ilmastikust. 2012 aasta katsetest Jõgeval 14 erineva odrasordi tava- ja mahetingimustes kasvatatud saagiproovide analüüsimisel ohratoksiini A ühestki varianti ei leitud. Jõgeva katsed koristati augusti esimesel dekaadil, kui sademete hulk oli väga väike ja koristuseelselt valitses kuiv ilmastik, mis ilmselt välistas ohratoksiin A tekke.

VÕRDLUS RAHASTAMISTAOTLUSES TOODUD EESMÄRKIDEGA

Rahastamistaotluses toodud eesmärkidega võrreldes on eesmärgid vastavalt rahastamise mahule saavutatud välja arvatud 2013 ja 2014 aasta ohratoksiinide analüüsid, kuna meil puudub väikeste koguste ohratoksiini mõõtmiseks sobiv detektor. Otsime analüüside tegemise võimalusi, sest proovidest on ekstraktid tehtud.

UUED TEADMISED JA OSKUSED

1. Põhja-Eestis Sakus kasvanud odras oli 5% võrra kõrgem *Fusarium* spp. ja 25% võrra kõrgem mustade hallitusseente esinemissagedus kui Kesk-Eestis Jõgeval. Selline tendents viitab odra kasvatuspiirkonna kliimaatiliste, mullastikuliste jt kohalike tegurite mõjule.
2. Aasta kliimaatilised tingimused, eelkõige sademete hulk ja jaotus kasvuperioodil on määrava tähtsusega *Fusarium* jt hallitusseente esinemissagedusele ja liigilisele kooslusele (näiteks *Fusarium culmorum* esines 2013.a. ainult Põhja-Eestis kasvatatud odrateradel ja puudus Kesk-Eestis kasvatatud saagis). Odrasaagi mikrobioloogiline kooslus sõltub ka geograafilisest kasvukohast.
3. Hallitusseentega *Alternaria*, *Phoma*, *Cladosporium* suurem nakatus esines niiskemal kasvuperioodil. *Fusarium* liikidega terade nakatumise määravad ära nii õitsemisaegne ilmastik kui ka mikroorganismide omavahelised suhted – niiskel suvel varem teri asustavad liigid hõivavad *Fusarium*´ idele vajaliku nišši–hallitusseente liikide vahel esineb odrasaagi asustamisel selge konkurents.
4. *Fusarium* seentest on teradel sagedasemad *F. sporotrichioides*, *F. poae* ja *F. culmorum* – kõik võimelised toksiine tootma. Mustad hallitusseened perekondadest *Alternaria*, *Phoma*, *Cladosporium* on sagedasemad niiskemal kasvuperioodil, harva ka *Aspergillus* sp kuivemal ja kuumemal suvel (varasem uurimus 2006-2010). Must hallitusseen *Epicoccum nigrum* on seni arvatust suurema levikuga, seda ka fungitsiididega pritsitud variantides. ja kuivemal kasvuperioodil.
5. Esmakordselt tuvastati meie poolt, et pärmseente arvukuse tõusuga vähenes *Fusarium* seente arvukus terasaagis, analoogne seos esines ka mustade hallitusseentega (*Alternaria*, *Phoma* spp) .
6. Lämmastikuga pealtväetamise ja fungitsiidide kasutamise mõju oli selgem aastatel kui hallitusseente arenguks olid soodsamad tingimused.
7. *Fusarium* seente arvukust teradel võib suurendada ka optimaalsest N-toitumisest kõrvalekaldumine – liiga väikesed või liiga suured N-väetise normid. Lämmastiku foonil N120 esines kõige vähem *Fusarium* seeni, foonidel N80 ja N100 aga enam ja kõige kõrgemal foonil N160 kõige enam. *Fusarium* seente arvukus suurenes vilja lamandumisel.
8. Fungitsiidide kasutamine mõjutas seeneperekondade arvulist suhet - suurendades või vähendades ühe või teise perekonna esinemist. *Fusarium* liikide kui põhiliste

toksikantide esinemise vähendamiseks oli parem 3 toimeainega komplekspreparaat Falcon Forte.

9. Fungitsiididega pritsimine vähendas odraterade mükotoksiinide sisaldust vaid hallitusseente arenguks soodsal kasvuperioodil. Variantides, mis olid pritsitud mitme toimeainega preparaatidega Falcon Forte ja Archer Top, uuritavaid mükotoksiine ei leitud, mistõttu võib neid ka hallitusseente tõrjes kasvuperioodil eelistada.

Ka viljelusviisi mõju *Fusarium* seente esinemissagedusele ei ilmnenud igal aastal. Musti hallitusseeni esines maheviljelusest pärit odrateradel 28% võrra rohkem.

10. Trihhotseenidest DON esines kõikides katsevariantides, selle sisaldust statistiliselt usutavalt vähendasid öitsemisaegne pritsimine preparaatidega Folicur ja Archer Top. Toksiinide HT2 ja T2 esinemine ei olnud sõltuv N-tasemest, fungitsiidide kasutamisest, viljelusviisist ega odra sordist. Ohratoksiin A esinemine oli väga sõltuv koristuseelsest ja koristusperioodi ilmastikust. Sademed nendel perioodidel soodustasid mustade hallitusseente hoogsamat arengut ja ohratoksiin A produtseerimist. Mükotoksiinidest esines toksiin DON ja T2 üle 50% proovides, seejuures tavaviljelusest pärit odrasortides esines toksiini DON rohkem kui maheviljelusest pärit odrasortides. Kuid nimetatud toksiinide kontsentratsioonid odra saagis olid väga väikesed ja selline vili mürgine ei ole.
11. Temperatuuri- ja niiskustingimuste muutumisel säilitamisel võivad tekkida säilitatavas viljas soodsad tingimused hallitusseente arenguks ja mükotoksiinide tekkimiseks. Meie katses tekkis säilitatavasse otra toksiin DON. Tulemused näitavad, et kõigile säilitusnõuetele vastava lao ehitamine odra säilitamiseks on hädavajalik.

JÄRELDUSED, PÖLLUMAJANDUSLIK JA MAJANDUSLIK EFEKT

1. Hallitusseente, sh taimehaiguste tõrje ja toksiinide vältimise abinõude kujundamisel odral on soovitatav arvestada piirkondlike ilmastiku tingimustega (eriti sademete jaotumine juuli II dekaadist kuni augusti II dekaadini), samuti kasvatatava sordi eripäradega nagu kasvuperioodi pikkusega, fusarioosikindluse ja seisukindlusega, reageerimisega N-väetamisele. Fungitsiidide kasutamisel soovitame mitme toimeainega preparaate. Kõigi hallitusseente arengut soodustavate tegurite koosmõju põhjustab mükotoksiinide tekkimise odrasaagis.

2. Maheviljeluses on soovitatav kasutada eelkõige varasemaid ja fusarioosikindlaid sorte, mis võimaldab varasemat koristust ja väldib vilja kvaliteeti rikkuvaid tegureid.

3. Tulemuste rakendamisel põllumajanduses suureneb mükotoksiinidest vaba teravilja tootmine ja kasutamine nii toidu- kui söödateraviljana, mis parandab tootmistulemusi loomakasvatases kui ka toiduainete tootmisel. Vähenevad inimeste ja loomade terviseriskid, paraneb nende tervislik seisund. Loomakasvatuse toodangu kvaliteet paraneb. Eesti teravilja eksportimisel saadakse paremat müügihinda.

4. Aastatel 1993–2013 Eesti koguekspordist moodustasid põllumajandussaadused 10-20%. Toidu- ja söödaohutuse paranemine avaldab olulist positiivset mõju paljude põllumajandussaaduste kvaliteedile ja müügile, seega kogu Eesti majandusele, ekspordile ning mainele.

5. Vältimaks mükotoksiinide teket odra säilitamisel, peavad kasutatavad laohooned tagama võimalikult optimaalsed säilitamise tingimused.

6. Majandusliku efekti arvutus (Prof. R. Värniku meetodika kohaselt): Kulud 1 ha kohta = preparaadi maksumus, vee vedu ja pumpamine, pritsimine, enamsaagi (0,4 tonni) koristamine, vedu, laadimine, kuivatamine, puhastamine, hoiustamine, vedu kokkuostu

moodustab 34,75 eurot. Kui toiduodra 1 tonni eest saab 153 ja söödaodra puhul 147 eurot, siis puhaskasum 1 ha kohta on vastavalt 26,5 ja 24,1eurot. Kasutades võtet 50% odra kasvupinnast ehk 64 000 hektaril, ja vähemalt poolel pinnal ehk 32 000 ha saagi kvaliteet vastab toiduodra nõuetele, poolel pinnal söödaodra nõuetele, saame toiduodra enamsaagi arvel kasumit 846 933 eurot, söödaodra kvaliteediga saagist vastavalt 770 133 eurot, kokku kasumit –1.617 066 eurot.

UURIMUSTE TULEMUSTE KASUTAMISE VÕIMALUSTEST

1. Tulemused on kasutatavad odra kasvatamisel, nii toidu-kui söödavilja töötlemisel veskites, teraviljakombinaatides või tootmisettevõtetes ning säilitamisel ladudes.

2. Tulemuste rakendamisel on võimalik saavutada kõrgemat kvaliteeti ja ohutumat odrasaaki nii söötade kui ka toiduainete tootmisel.

3. Saadud uurimistulemusi kasutatakse vastavatel koolitustel ja nõustamisel, tutvustatakse seminaridel, kursustel ja loengutel, samuti ajakirjanduses, mis tagab saadud uute teadmiste kõige kiirema praktikasse rakendamise.

4. Koostatakse 2 juhendit - mahe-ja tavaviljeluses odra kasvatamisel hallitussente ja mükotoksiinide esinemise vähendamiseks ja vältimiseks. Juhendit levitatakse ETKI kodulehe kaudu ja finantside olemasolul ka paberkanalil.

5. Uurimistulemuste põhjal kirjutatakse 1.1. reitinguga artikleid rahvusvahelise levikuga ajakirjades ja arendatakse koostööd Baltikumi ja Põhjamaade teadlastega.

6. Uurimistulemuste põhjal valmib Akk Elina doktoritöö.

4. PROJEKTI LÕPPARUANDE LÜHIKOKKUVÕTE:

1. Hallitussente koosseis odra teradel: Mustadest hallitussente liikidest domineerisid *Alternaria tenuissima*, *Epicoccum nigrum*, *Alternaria alternata*, *Cochliobolus sativus*, üksikutes proovides esines liiki *Cladosporium cladosporioides*. Hallitussente liike perekonnast *Penicillium* ja *Aspergillus* odrateradel ei tuvastatud. Levinumad *Fusarium* liigid olid *F. sporotrichioides*, *F. lateritium*, *F. tricinctum*, *F. poae* ja *F. culmorum*. Kesk-Eestist pärit odrateradel domineerisid *Fusarium lateritium* ja *Fusarium sporotrichioides*.

Kolme aasta keskmisena esines 65% teradel musti hallitusseeni ja 4,5% teradel *Fusarium* spp.

2. N pealtväetamine. Erinevad lämmastikunormid statistiliselt usutavalt hallitussente kooslust teradel ei mõjutanud. Kuigi tuvastasime, et foonil N120 esines *Fusarium* seeni vähem kui teiste foonide puhul. Samas N160 variandis lamandumisel aga kõige enam. Musti hallitusseeni esines aastal 2013 kõrgetel N foonidel N120 ja N160 12% võrra vähem kui madalatel N foonidel. Seega erinevate lämmastiku normide kasutamine hallitussente, sealhulgas *Fusarium* seente, kooslust otseselt ei mõjuta. Kõrgetel lämmastikufoonidel, nagu N160, lamandub oder kergesti ja kokkupuutes mullaga võib suurenedada hallitussente, sealhulgas *Fusarium* seente arvukus. Kuid toksiinide sisaldust odraterades mõjutas lämmastikuga väetamine. Madalamatel lämmastiku tasemetel, nagu N40 ja N80, ning kõrgel lämmastiku tasemel, N160, esines toksiine DON, HT2 ja T2 sagedamini kui N120 foonil.

3. Fungitsiididega pritsimine kolme aasta keskmisena ei mõjutanud usutavalt hallitussente esinemist ja kooslust odrateradel. Erandiks oli must hallitusseen *Epicoccum nigrum*, mille esinemist vähendasid usutavalt kõik katsetatud preparaadid. Kuid vihmasel ja jahedal kasvuperioodil nagu oli 2012. aastal, vähendasid fungitsiidid hallitussente esinemist usutavalt. Fungitsiididega pritsitud variantides esines uuritud toksiine DON ja ohratoksiin A vähem kui pritsimata variandis. Parema toimega kui ühe toimeainega Folicur olid mitme toimeainega preparaadid Falcon Forte ja Archer Top.

4. Viljelusviis mõjutas mustade hallitusseente esinemist odras, kuid *Fusarium* seente esinemisele mõju puudus. Musti hallitusseeni esines maheodra teradel 28% võrra rohkem kui tavaviljelusest pärit odrateradel. Sordilisuse statistiliselt usutavat mõju (12 sorti) hallitusseente kooslusele mahe- ja tavaviljeluses kasvatamisel ei tuvastatud. Erandina tuvastasime, et sordil 'Hennike' esines nii mahe kui tavaviljelusest pärit proovides vähem *Fusarium* seeni kui teistel sortidel. Sortide 'Flavoure' ja 'Propino' terad olid aga 60 ja 47% võrra enam saastunud mustade hallitusseentega.

Sordilisuse mõju koos viljelusviisi mõjuga toksiinide DON, HT2 ja T2 tekkele terades avaldus kahel sordil. Maheviljelusest pärit odrasordil 'Maali' esines sagedamini toksiini T2 kui samal sordil tavaviljeluses. Odrasordil 'Olof' esines sagedamini toksiini DON tavaviljelusest pärit saagiproovides. Seega mahe- ja tavaviljeluse mõju odrasaagi saastumisele toksiinidega on küll madal, kuid mõned sordid võivad olla vastuvõtlikumad toksiinide tekkele terades.

6. Säilitamisel laos odra tärklise- ja proteiinisaldus ei muutunud. Muutused laoruumi õhutemperatuuris ja niiskuses suurendasid riski toksiini DON tekkimiseks säilitatavas odras. See näitab, et kõigile säilitusnõuetele vastava lao ehitamine odra säilitamiseks on hädavajalik.

5. LÜHIKOKKUVÕTE INGLISE KEELES :

1. Common mould composition of barley grain:

The species of black moulds dominated *Alternaria tenuissima*, *Epicoccum nigrum*, *Alternaria alternata*, *Cochliobolus sativus* and in individual samples appeared species *Cladosporium cladosporioides* on barley grain. The mould of the genus *Penicillium* and *Aspergillus* species did not find on barley. The most common *Fusarium* species were *F. sporotrichioides*, *F. lateritium*, *F. tricinctum*, *F. poae* and *F. culmorum*. But *F. lateritium* and *F. sporotrichioides* dominated on barley from Central Estonia. The three-year averagely occurred in 65% of the grains of black mould and 4,5% of grain *Fusarium* spp.

2. The impact of the fertilization different level of N to mould composition and toxins DON, HT2, T2 and ochratoxin A:

On different levels of nitrogen did not affect the composition of the moulds on barley. But we detected that by the nitrogen level N120 occurred less *Fusarium* fungi on barley grain than others levels of nitrogen. However, the most *Fusarium* spp. found in the grain of barley from nitrogen level N160. Whereas, 12% less black mould appears on grain at high levels of nitrogen N120 and N160 than the lower N 80 and N40. Thus, the use of different nitrogen levels not directly affected a composition of mould, including *Fusarium* spp. on barley grain. However, different levels of nitrogen influenced toxin content in barley. At lower levels of nitrogen, such as the N40 and N80, and a high level of nitrogen, N160, there were toxins DON, HT2 and T2 often than in barley from N120.

3. Impact of the spraying with fungicides:

The using fungicides haven't influenced the composition of mould on grain. The fungicides reduced only species of black mould, *Epicoccum nigrum*. However, on a rainy and cool growing season, as was 2012, the using fungicides reduce the mould community. Also fungicides decreased toxins DON and OTA in barley. Thereby a better effect accords fungicides of several ingredients as Falcon Forte and Archer Top.

4. Cultivation practices influenced a black mould on barley, but did not occurrence of *Fusarium* fungi. We found black moulds 28% more in organic barley than conventional barley. The effect of varieties (12 varieties) was not found. However, we would note that on a grain of variety 'Hennike' were both organic as conventional samples less *Fusarium* spp.

than other barley varieties. On grain from the varieties 'Flavoure' and 'Propino', were 60 and 47% more contaminated with black mold.

Impact of varieties to the toxins DON, HT2 and T2 have effect in barley grain of two varieties. In organic barley from variety 'Maali' occurred more frequently T2 toxin than in conventional barley of variety 'Maali'. Toxin DON was found more frequently in samples from conventional variety 'Olof'. Thus, the impact of organic and conventional practices contamination by toxins was low, but some varieties may be more susceptible to toxins in the emergence of the grains.

5. The time of storage barley (October to March) in storehouse starch and protein contents of grain is not changed. Changes in the storage room temperature and humidity increased risk of DON toxin formation in the stored barley.

6. TEEMA RAAMES ILMUNUD PUBLIKATSIOONID:

Akk, E. 2011. Suviteraviljade saagi mikrobioloogias. Vahtramäe, E. (Toim.). IV noorteadlaste konverentsi teesid, 12 - 13. TÜ multimeedia talitus

Yli-Mattilila, T., Rämö, S., **Tanner, R., Loiveke, H.**, Hietaniemi, V. 2011. *Fusarium* DNA levels as compared to mycotoxin levels in Finnish and Estonian grain samples. *Plant Breeding and Seed Science*, vol 64, 2011, 131-140.

Heino Lõiveke, Elina Akk. 2012. Toxicity of *Fusarium* isolates from Estonian grain towards *Bacillus stearothermophilus*. NJF seminar 451. Book of abstracts, pp 38. Nordic Baltic Fusarium Seminar NBFS 2012. Uppsala, Sweden, 13-15 November 2012.

Sørensen, Jens, Laurids; **Akk, Elina**; Thrane, Ulf; Giese; Henriette; Sondergaard, Teis, Esben. 2013. Production fusariliens by *Fusarium*. *International Journal of Food Microbiology*, 160, 3, 206-2011.

Edesi, Liina; Järvan, Malle; Lauringson, Enn; **Akk, Elina**; Tamm, Kalvi (2013). The effect of solid cattle manure on soil microbial activity and on plate count microorganisms in organic and conventional farming systems. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 12, 476-488.

Elina Akk, Heino Lõiveke, Liina Edesi, Mary-Liis Kütt, Enn Lauringson and Veiko Kastanje. 2013. Formation of the abundance of microfungi on the barley grain grown as pure end mixed crops in Central and North Estonia. *Estonian Journal of Ecology* 2013, 62, 4, 265-275..

Akk, Lõiveke, Kastanje, Lauringson, 2013. Formation of the multitude of fungi in the barley yield grown as pure and mixed crops under different agro-ecological conditions. *FOODBALT-2013. 8-th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food, Health and Well-being"*, May 23-24, 2013, Tallinn, Estonia. Abstracts, p. 10.

Elina Akk, Risto Tanner, Heino Lõiveke, Mary-Liis Kütt, Margus Ess. 2014. Toxins DON, T2 and HT2 in organically produced grain of oat in Estonia in 2012. The Nordic Baltic Fusarium Seminar (NBFS 2014) Challenges and recent updates in Helsinki 18-19 November 2014. Book of abstracts, p.31-32.

Lõiveke, H., Müür, J., Akk, E. 2012. Teraviljakahjurid kui saagikuse ja vilja hallituseentega saastumise mõjutajad. Astover, A.; Metspalu, L.; Viiralt, R.; Karp, K. (Toim.). *AGRONOOMIA* 2012, 145 – 150.

Akk, E., Lõiveke, H., Tanner, R., Kütt, M-L. 2015. The impact of fungicides spraying to the occurrence mycotoxins DON, HT2 and T2 in yield of spring barley. – *Agronomy* 2015.

Lõiveke, H. 2013. Suviniisu haigused ja nende tõrje. *Uuemaid teadustulemusi maaviljeluses. Õppepäeva ettekanded.* Saku, 2013, lk 4-22.

Heino Lõiveke. 2012. Mais siloks. Maaleht (Messileht) 12 aprill 2012.

Heino Lõiveke, Paul Lättemäe. 2012. Silo võib olla väga toksiline. Maamajandus, juuni, 2012, lk. 16-19.

Heino Lõiveke. 2012. Mida teha põllule jäänud viljaga. Maamajandus, Nr. 4(4) 18. oktoober, lk. 13.

Heino Lõiveke, Paul Lättemäe, **Elina Akk.** 2012. Söödad vajavad kontrollimist. Maamajandus, Nr. 5 (5) 15 november, lk. 11.

Elina Akk, Heino Lõiveke. 2012. *Fusarium* ründab igast asendist. Maamajandus Nr.6 (6) 13 detsember 2012.lk. 10.

Lättemäe, P., **Lõiveke, H.** 2013. Sööda kvaliteedist sõltub lehma tervis ja eluea pikkus. Maaleht (Messileht, 15.04. 2013).

Lõiveke, H., Akk, E., Puusepp, P. Teraviljaseeme külviks valmis? Maaleht 18. aprill, 2014.

Lõiveke, H. 2014. Kas põllumees on ikka alati süüdi ? Õhtuleht, 14.08. 2014.

<http://www.ohtuleht.ee/591713/kas-pollumees-on-ikka-alati-suudi>

Lõiveke, H., Akk, E. 2014. Kahjureid ja lesti tuleb korralikult tõrjuda. Maaleht, 12. 09.2014.

Projekti juht (ees- ja perekonnanimi):	Allkiri: Heino Lõiveke	Kuupäev: 2015-03-31
Taotleja esindaja kinnitus aruande õigsuse kohta (ees- ja perekonnanimi):	Allkiri: Mati Koppel	Kuupäev: 2015-03-31

Projekti lõpparuande täitmise juhend on kättesaadav Põllumajandusministeeriumi koduleheküljel <http://www.agri.ee>