

CHARAKTERYSTYKA MYKOLOGICZNA NASION RZEPAKU W ZALEŻNOŚCI OD WARUNKÓW ICH PRZECHOWYWANIA

T. Kornillowicz-Kowalska, A. Szwed, G. Szwed*

Katedra Mikrobiologii Rolniczej AR, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

*Instytut Agrofizyki PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Streszczenie: W pracy przedstawiono wyniki badań składu ilościowo-jakościowego grzybów rozwijających się na przechowywanych nasionach rzepaku w warunkach laboratoryjnych odwzorowujących warunki naturalne (silosy, elewatory). Badania przeprowadzono wykorzystując nasiona rzepaku jarego Star o dwóch poziomach wilgotności 6 i 11%. Przechowywano je przez okres 50 lub 180 dni w komorze ciśnieniowej w temp. 20 °C i ciśnieniu wewnątrz komory 300kPa. Badania mykologiczne obejmowały oznaczenie ogólnej liczebności grzybów oraz liczebności grzybów potencjalnie toksynotwórczych z rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Ponadto oznaczono skład gatunkowy zebranego materiału grzybowego. Przeprowadzone badania wykazały, że rozwój grzybów pleśniowych na nasionach rzepaku zależał od wilgotności nasion, ciśnienia panującego w komorze zbiornika oraz od czasu ich przechowywania. Do najczęściej izolowanych z przechowywanego materiału grzybów należały rodzaje *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* i *Acremonium*. Częstotliwość izolacji ww. dominantów była zależna od rodzaju pożywki.

Słowa kluczowe: nasiona rzepaku, warunki przechowywania, grzyby.

WSTĘP

Nasiona rzepaku są bardziej podatne na odkształcenia od ziarna zbóż i stąd przechowywanie ich w warunkach przemysłowych (silosy, elewatory) wymaga odmiennego obchodzenia się z nimi w procesie magazynowania. Pod wpływem naprężeń powstałych z nacisków górnych warstw złoża występuje deformacja ich powierzchni co przyczynia się do zmniejszenia porowatości złoża, a więc utrudnia przepływ gazu [2, 13, 14].

Deformacja nasion powoduje uszkodzenia ich okrywy nasiennej co sprzyja wnikaniu w głąb mikroorganizmów znajdujących się na powierzchni nasion, a zwiększona gęstość sprzyja ich rozprzestrzenianiu się [2, 7, 13].

Podczas gdy wirusy i bakterie mają w naszej strefie klimatycznej małe znaczenie dla magazynowania to grzyby wywierają znaczny wpływ na jakość nasion i ich czas przechowywania [1, 2, 3, 8, 9, 13, 15]. Najliczniejsza grupa tych mikroorganizmów reprezentowana jest przez takie rodzaje grzybów jak: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. Produktami metabolizmu komórkowego tych grzybów są toksyczne dla ludzi i zwierząt mykotoksyny, które przemieszczają się w głąb nasienia i kumulują się w nim [3]. Mogą one zagrażać zdrowiu personelu w magazynie, powodować spadek jakości produktu ostatecznego, a tym samym zagrażać zdrowiu ludzi i zwierząt.

CEL, ZAKRES I METODYKA BADAŃ

Podjęte badania miały na celu poznanie składu ilościowo - jakościowego grzybów rozwijających się na przechowywanych nasionach w specjalnych stanowiskach laboratoryjnych odwzorowujących przechowywanie nasion w warunkach przemysłowych.

Realizacja przyjętego celu wymagała sprawdzenia czy:

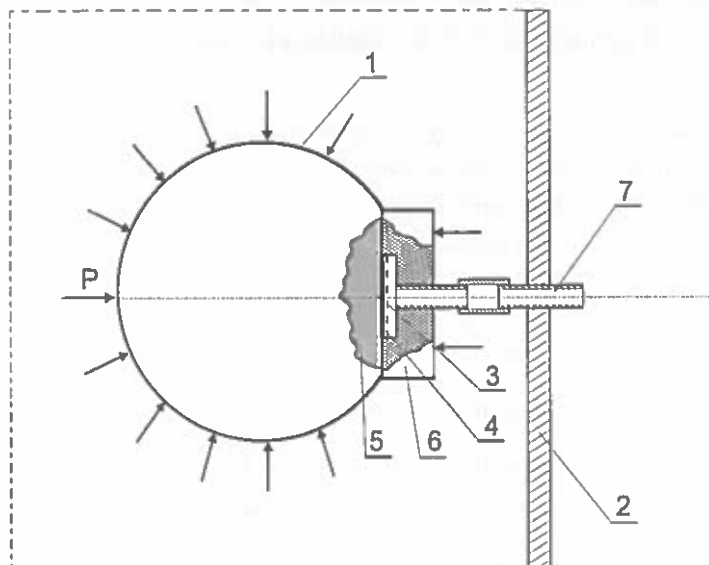
1. warunki przechowywania selekcionują skład ilościowy i jakościowy grzybów na przechowywanych nasionach,
2. zawartość wody w przechowywanych nasionach w sposób wyraźny wpływa na rozwój grzybów,
3. stan naprężeń między nasionami ma wpływ na ww. mikroorganizmy.

Badania przeprowadzono wykorzystując nasiona rzepaku jarego odmiany Star o dwóch poziomach wilgotności 6 i 11%. Naprężenia między nasionami wywołano umieszczając pojemniki z nasionami w odpowiednim zbiorniku ciśnieniowym (Rys.1). Próbkę nasion o masie 2,5 kg uformowane w sposób przedstawiony na rysunku poddane były trójosiowemu ściskaniu na skutek ciśnienia (300 kPa) panującemu w komorze zbiornika.

Warunki i czas przechowywania były następujące:

- I - nasiona pozyskane ze zbioru kombajnowego,
- II - nasiona o wilgotności 6% - przechowywane 50 dni w temp. 20⁰C i poddane ciśnieniu 300 kPa,
- III - nasiona o wilgotności 11% - przechowywane 50 dni w temp. 20⁰C i poddane ciśnieniu 300 kPa,

IV - nasiona o wilgotności 11% - przechowywane 50 dni w temp. 20°C,
 V - nasiona o wilgotności 11% - przechowywane 180 dni w temp. 20°C i poddane ciśnieniu 300 kPa,



Rys.1. Schemat próbki nasion rzepaku umieszczonego w zbiorniku ciśnieniowym: 1 - guma lateksowa; 2 - ściana zbiornika; 3 - siatka; 4 - tkanina przepuszczalna gaz; 5 - nasiona rzepaku; 6 - głowica zamykająca nasiona w powloce lateksowej; 7 - dren łączący próbkę nasion z atmosferą zewnętrzną komory; P - ciśnienie oddziaływujące na nasiona.

Fig. 1. Measurement stands scheme: 1 - latex container, 2 - pressure vessel, 3 - net, 4 - viscose fabric, 5 - rape seed, 6 - head, 7 - pipe connecting seed sample with atmosphere outside chamber, p - pressure acting on seeds.

Badania mykologiczne obejmowały oznaczenie ogólnej liczebności grzybów na podłożu Martina (PN-R-64791) oraz liczebności grzybów potencjalnie toksygotwórczych z rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium* na podłożach selektywnych tj. pożywce Czapek - Dox oraz Nash'a i Snyder'a [10]. Identyfikację rodzajową i gatunkową zebranego materiału grzybowego przeprowadzono na podstawie obserwacji mikro- i makromorfologicznych z wykorzystaniem powszechnie stosowanych pożywek diagnostycznych dla grzybów. Korzystano z następujących opracowań systematycznych: Domsch i in. [4], Ellis i in. [6], Raper i in. [12].

WYNIKI BADAŃ I ICH ANALIZA

Dane zamieszczone w tabeli 1 wskazują na niewielkie w porównaniu z materiałem wyjściowym (kombinacja I) wahania liczebności grzybów pleśniowych na nasionach o wilgotności 6 i 11% poddanych działaniu naprężeń (kombinacje II, III).

Tabela 1. Liczba jednostek propagacyjnych grzybów (CFU g⁻¹s.m. nasion) na nasionach rzepaku w warunkach odwzorowujących przechowywanie w warunkach przemysłowych

Table 1. Number of propagation units of fungi (CFU g⁻¹ d.m. of seeds) on rape seed surface under conditions representing industrial seed storage

Kombinacje doświadczalne	Podłoża		
	Martin	Czapek-Dox	Nash i Snyder
I	5,1 x 10 ³	3,3 x 10 ³	9,7 x 10 ²
II	5,5 x 10 ³	3,9 x 10 ³	1,0 x 10 ³
III	6,6 x 10 ³	2,5 x 10 ³	2,1 x 10 ³
IV	1,1 x 10 ³	9,3 x 10 ²	9,6 x 10 ²
V	6,1 x 10 ⁶	3,1 x 10 ⁶	9,5 x 10 ⁵

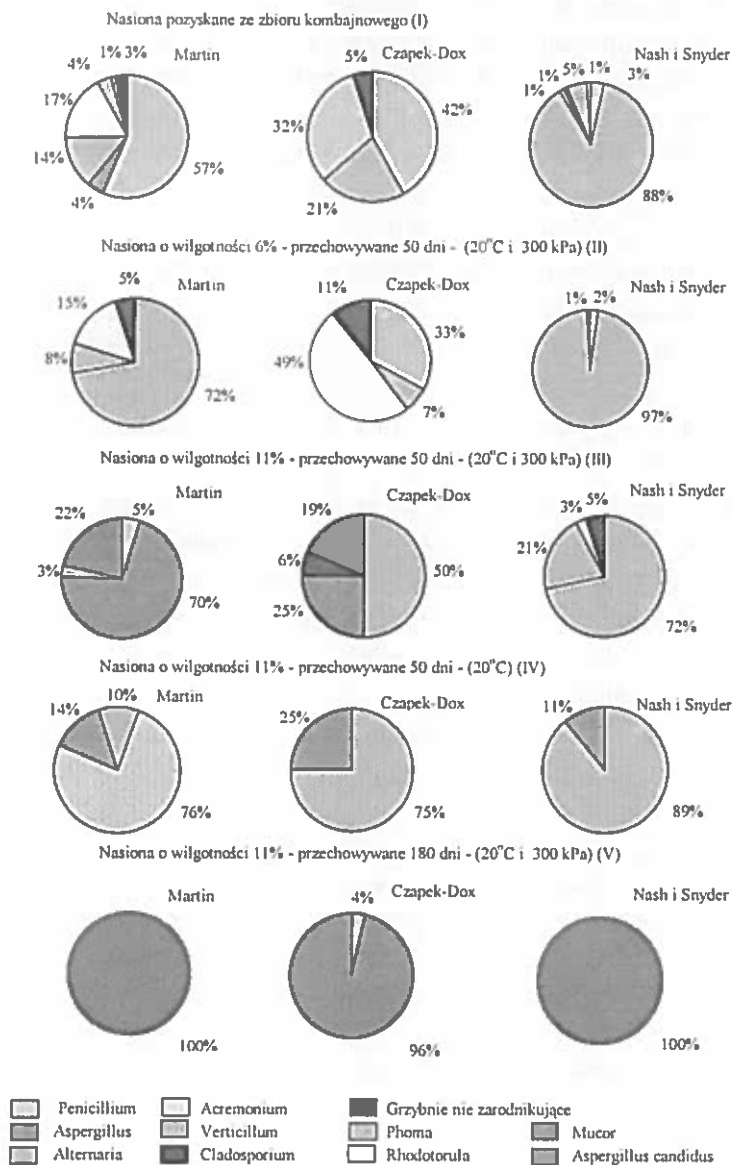
Spadek liczebności grzybów wystąpił w kombinacji IV w której nasiona (o wilgotności 11%) nie były poddane działaniu ciśnienia. Wzrostowi liczebności grzybów sprzyjało natomiast dłuższe przechowywanie nasion w warunkach podwyższonego ciśnienia i wilgotności (kombinacja V). Świadczył o tym ok. 1000 krotny wzrost liczby jednostek propagacyjnych grzybów w omawianej kombinacji (Tab.1) w stosunku do materiału nasiennego pochodzącego ze zbioru. Efekt ten uzyskano na różnych podłożach izolacyjnych dla grzybów (Tab.1). Zjawisko to tłumaczą wyniki badań Szweda [14]. Cytowany autor podaje, że stan naprężeń w przechowywanych nasionach rzepaku wywołany ciśnieniem powodował obniżenie jakości i deformację przechowywanych nasion. Odkształcenie nasion a także ubytek wolnej przestrzeni przyczynia się do szybszego rozprzestrzeniania grzybów a co za tym idzie pogorszenie jakości technologicznej nasion rzepaku. Wydaje się, że czynnikiem mogącym ograniczyć rozwój grzybów pleśniowych na nasionach rzepaku może być przechowywanie w atmosferze CO₂ który hamuje wzrost większości tych drobnoustrojów.

W niniejszej pracy stwierdzono ponadto, że zmianom ilościowym grzybów zasiedlających nasiona rzepaku towarzyszyły zmiany w składzie oraz proporcjach ilościowych poszczególnych rodzajów tych drobnoustrojów (Rys. 2).

Największe zmiany stwierdzono na nasionach o wilgotności 11% poddanych działaniu naprężeń (kombinacje III i V). Odznaczały się one spadkiem częstotliwości występowania grzybów z rodzaju *Penicillium*, *Acremonium* i *Alternaria* oraz wzrostem liczebności przedstawicieli *Aspergillus*. Ten ostatni efekt najsilniej uwidocznił się po dłuższym (180 dni) okresie przechowywania nasion (kombinacja V) - Rys.2.

Analiza składu gatunkowego wyodrębnionych micromycetes wykazała, że w kombinacjach kontrolnej (I) oraz zawierającej nasiona rzepaku o wilgotności 6% (II) występowały przede wszystkim gatunki pochodzenia glebowego reprezentujące głównie rodzaje *Penicillium* i *Acremonium* oraz grzyby typowe dla powierzchni nasion rzepaku tj. *Alternaria brassicae*, *A. alternata*, *A. brassicola* [4, 9] - Tabela 2. W kombinacjach zawierających nasiona o wilgotności 11% (III, IV, V) obserwowano zanik tych grzybów i zastępowanie ich populacjami tzw. grzybów przechowywalnianych z grupy *Aspergillus flavusoryzae* oraz *Aspergillus candidus*. Drugi z ww. grzybów wyselekcjonował się w formie monokultury w kombinacji V (Tab. 2).

Należy sądzić, że w kombinacji tej nastąpiło znaczne (wskutek rozwoju grzybów) podwyższenie wilgotności nasion rzepaku. Z piśmiennictwa wiadomo bowiem [5], że *A. candidus* rozwija się na ziarnie wówczas gdy jego wilgotność przekroczy 20%. Z badań własnych wynika, że liczebność tego grzyba sięgała kilku milionów jednostek propagacyjnych na 1g s.m. nasion rzepaku (Tab.1, Rys.2). Wykonywanie jakichkolwiek prac z tak zapełnialym materiałem wiąże się z ryzykiem wdychiwania dużych ilości alergenów i mykotoksyn produkowanych przez ten, a także inne gatunki grzybów alergizujących i toksynotwórczych (m.in. *A. flavus*, *P. citrinum*, *Alternaria* spp.). Może to prowadzić do przewlekłej choroby płuc [5].



Rys. 2. Procentowy udział rodzajów grzybów wyodrębnionych na różnych podłożach hodowlanych z nasion rzepaku.

Fig. 2. Percentage of fungi genera isolated from rape seeds using various culturing media.

Tabela 2. Wykaz gatunków grzybów wyodrębnionych z nasion rzepaku

Table 2. List of fungi isolated from rape seeds

Lp.	Rodzaj, gatunek	Liczba szczepów		
		Pożywka Martina	Pożywka Czapek - Dox	Pożywka Nash i Snyder
Nasiona pozyskane ze zbioru kombajnowego (I)				
1.	<i>Acremonium bisseptum</i>	17	0	1
2.	<i>Acremonium rutilum</i>	6	0	0
3.	<i>Acremonium</i> sp.	0	11	0
4.	<i>Acremonium strictum</i>	0	20	0
5.	<i>Alternaria alternata</i>	10	0	0
6.	<i>Alternaria brassicae</i>	0	0	45
7.	<i>Alternaria brassicola</i>	0	0	29
8.	<i>Alternaria raphani</i>	9	0	7
9.	<i>Alternaria</i> sp.	0	21	0
10.	<i>Aspergillus versicolor</i>	6	0	0
11.	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	0	0
12.	<i>Cladosporium herbarum</i>	0	5	0
13.	<i>Penicillium brevicompactum</i>	4	6	0
14.	<i>Penicillium chrysogenum</i>	50	17	1
15.	<i>Penicillium citrinum</i>	13	0	0
16.	<i>Penicillium corylophilum</i>	9	0	0
17.	<i>Penicillium digitatum</i>	0	8	0
18.	<i>Penicillium expansum</i>	0	0	1
19.	<i>Penicillium granulatum</i>	0	9	0
20.	<i>Penicillium</i> ssp.	0	1	1
21.	<i>Phoma eupyrena</i>	0	0	5
22.	<i>Rhodotorula</i>	0	0	1
23.	<i>Verticillium nigrescens</i>	5	0	0
24.	Grzyby nie zarodnikujące	4	0	1
ogółem		135	98	92

Nasiona o wilgotności 6% - przechowywane 50 dni w temp. 20°C
i poddane ciśnieniu 300 kPa (II)

1.	<i>Acremonium bisseptum</i>	0	25	0
2.	<i>Acremonium strictum</i>	14	25	0
3.	<i>Alternaria brassicola</i>	7	7	87
4.	<i>Cladosporium cladosporoides</i>	5	6	0
5.	<i>Cladosporium herbarum</i>	0	5	0
6.	<i>Penicillium brevicompactum</i>	0	14	0
7.	<i>Penicillium chrysogenum</i>	0	0	1
8.	<i>Penicillium citrinum</i>	21	0	0
9.	<i>Penicillium corylophilum</i>	6	0	0
10.	<i>Penicillium digitatum</i>	11	0	0
11.	<i>Penicillium expansum</i>	29	12	1
12.	<i>Penicillium</i> spp.	0	7	0
13.	Grzyby nie zarodnikujące	0	0	1
ogółem		93	101	90

Nasiona o wilgotności 11% - przechowywane 50 dni w temp. 20°C
i poddane ciśnieniu 300 kPa (III)

1.	<i>Acremonium strictum</i>	0	0	1
2.	<i>Alternaria brassicola</i>	3	0	5
3.	<i>Alternaria raphani</i>	1	0	0
4.	<i>Alternaria</i> sp.	0	0	3
5.	<i>Aspergillus flavus-coryzae</i>	88	4	0
6.	<i>Cladosporium chlorocephalum</i>	0	0	2
7.	<i>Cladosporium herbarum</i>	0	1	0
8.	<i>Mucor circinelloides</i>	17	3	0
9.	<i>Mucor hiemalis</i>	10	0	0
10.	<i>Penicillium chrysogenum</i>	5	0	1
11.	<i>Penicillium citrinum</i>	0	0	1
12.	<i>Penicillium corylophilum</i>	0	0	1
13.	<i>Penicillium expansum</i>	0	0	19
14.	<i>Penicillium nigricans</i>	1	0	3
15.	<i>Penicillium</i> ssp.	0	8	3
ogółem		125	16	39

Nasiona o wilgotności 11% - przechowywane 50 dni w temp. 20 °C (IV)

1.	<i>Alternaria brassicola</i>	1	0	0
2.	<i>Alternaria raphani</i>	2	0	0
3.	<i>Aspergillus candidus</i>	3	2	0
4.	<i>Aspergillus erythrocephalus</i>	0	0	3
5.	<i>Aspergillus spp.</i>	0	4	0
6.	<i>Aspergillus versicolor</i>	1	0	0
7.	<i>Penicillium corylophilum</i>	5	0	0
8.	<i>Penicillium digitatum</i>	0	7	0
9.	<i>Penicillium granulatum</i>	0	9	0
10.	<i>Penicillium rugulosum</i>	7	0	0
11.	<i>Penicillium spp.</i>	10	2	24
ogółem		29	24	27

Nasiona o wilgotności 11% - przechowywane 180 dni w temp. 20 °C

i poddane ciśnieniu 300 kPa (V)

1.	<i>Aspergillus candidus</i>	71	27	90
2.	<i>Penicillium granulatum</i>	0	1	0
ogółem		71	28	90

WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania wykazały, że rozwój grzybów pleśniowych na nasionach rzepaku zależy od wilgotności nasion, ciśnienia panującego w komorze zbiornika oraz od czasu ich przechowywania.
2. Stwierdzono, że liczba jednostek propagacyjnych grzybów na nasionach rzepaku rosła wraz ze wzrostem okresu przechowywania nasion i osiągała maksimum po 6 miesiącach. Wzrostowi liczebności grzybów sprzyjało podwyższenie wilgotności nasion z 6% do 11% oraz przechowywanie w komorze ciśnieniowej.
3. Do najczęściej izolowanych z przechowywanego materiału grzybów należały rodzaje *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* i *Acremonium*. Nie stwierdzono natomiast obecności *Fusarium*. Częstotliwość izolacji ww. dominantów była zależna od rodzaju pożywki. Rodzaje *Penicillium*, *Aspergillus* i *Acremonium* izolowano częściej na pożywkę Martina i Czapek-Dox'a. Grzyby z rodzaju *Alternaria* w największej liczbie wyosobniono na pożywkę Nash'a i Snyder'a.

4. Przechowywanie nasion rzepaku w warunkach zróżnicowanego poziomu wilgotności i ciśnienia wywoływało zmiany w składzie jakościowym badanych zbiorowisk grzybów. Największym zróżnicowaniem gatunkowym odznaczało się zbiorowisko grzybów kolonizujących nasiona rzepaku pozyskane ze zbioru kombajnowego. Najmniejszą różnorodność gatunkową stwierdzono w próbach pochodzących z kombinacji przechowywanych 6 miesięcy (wilgotność 11% i ciśnienie 300 kPa).
5. Analiza składu gatunkowego wyodrębnionego materiału grzybowego wskazywała na selekcję w obrębie zbiorowisk badanych grzybów co wyrażało się zastępowaniem gatunków grzybów pochodzenia glebowego i występujących na powierzchni roślin przez gatunki typowo „przechowalniańskie”.
6. Przechowywanie nasion rzepaku o wilgotności 11% przez 6 miesięcy może prowadzić do zagrożenia zdrowia pracowników magazynów spowodowane silnym rozwojem grzybów alergizujących i toksynogennych.

PIŚMIENNICTWO

1. Bielecka M., Biedrzycka E., Bedrzycka E., Śmieszek M.: Warunki zbioru i przechowywania a jakość nasion rzepaku. Cz. II. Jakość mikrobiologiczna. Rośliny oleiste XV, 2, 133-143, 1994.
2. Bulsiewicz T., Matzke W., Smarzyński E., Świątek H.: Magazynowanie ziarna zbóż, nasion strączkowych i oleistych. WNT, Warszawa, 1975..
3. Chelkowski J.: Mikotoksyny, wytwarzające je grzyby, mikotoksykozy. (Skrypt) SGGW AR Warszawa, 1985.
4. Domsch K.H., Gams W.: Compendium of soil fungi. Vol. I. Academic Press. London, 1980.
5. Dutkiewicz J., Jabłoński L.: Biologiczne szkodliwości zawodowe. PZWL Warszawa, 1989.
6. Ellis H.B.: Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth, Mycological Institute Kew Surrey, England, 1971.
7. Grzesiuk S., Kulka K.: Fizjologia i biochemia nasion. PWRiL, Warszawa, 1981.
8. Kaleta A.: Modelowanie procesu konwekcyjnego suszenia ziarna w silosach. Wyd. Fundacja „Rozwój SGGW”, Rozprawa habilitacyjna, 1996.
9. Mrugas D., Gwiazdowski R.: Patogeny wyizolowane z nasion rzepaku. Progress in Plant Protection (Postępy w Ochronie Roślin) 38(2), 461-463, 1988.
10. Nash S., Snyder C.W.: Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root, Rot Fusarium in Field Soils. Phytopathol. 52, 567-572, 1962.
11. Polska Norma PN-R-64791 1994. Pasze. Wymagania i badania mikrobiologiczne.
12. Raper K.B., Thom C., Fennel D.I.: A manual of the Penicillia. Hafner Publishing Company, New York and London, 1968.

13. Skriegen E.: Kältlagerung von Körnerraps. RAPS 7, 2, 78-87, 1989.
14. Szwed G.: Kształtowanie fizycznych i technologicznych cech nasion rzepaku w modelowych warunkach przechowywania. Acta Agrophysica 27. Monografia, 2000.
15. Toboła P., Muśnicki Cz., Muśnicka B.: Ochrona rzepaku ozimego przed szkodnikami a jakość nasion. Progress in Plant Protection (Postępy w Ochronie Roślin) 36(2), 148-151, 1996.

MYCOLOGICAL CHARACTERIZATION OF RAPE SEEDS DEPENDING ON STORAGE CONDITIONS

T. Kornilowicz-Kowalska, A. Szwed, G. Szwed*

Department of Agricultural Microbiology, Academy of Agricultural,
Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

*Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27

Summary: Study results of quantitative composition of fungi grown on stored rape seeds under laboratory conditions which represented natural ones (silos, elevators) have been presented in the paper. Studies have included spring rape seeds. Star with two moisture levels (6% and 11%). They have been stored in a pressure chamber within 50 or 180 days at 20 °C and 300kPa. Mycological examinations have included estimation of total fungi population as well as number of fungi with potentially toxin-forming properties from *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* genera. Moreover, species composition of material has been evaluated.

Studies have revealed that development of mould fungi on rape seed surface has depended on seed's moisture, pressure in the chamber and the storage time. Fungi from *Penicillium*, *Asprgillus*, *Alternaria* and *Acremonium* genera have been the most often isolated. Isolation frequency of above dominants has depended on the type of medium.

Key words: rape seeds, storage, fungi