Badania składu ilościowego i jakościowego grzybów zasiedlających nasiona słonecznika (*Helianthus annus* L.)

Study on the quantitative and qualitative composition of moulds colonizing sunflower seeds (*Helianthus annus* L.)

Katarzyna Janda, Jolanta Wolska, Kamila Dębia

Zakład Biochemii i Żywnienia Człowieka Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie
ul. Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Ewa Stachowska

SUMMARY

Introduction: The aim of study was to estimate the qualitative and quantitative composition of moulds colonizing sunflower seeds on RBCA, YpSs, DG18 media at 25, 37, and 45°C.

Material: Twenty samples of sunflower seeds (not roasted and not salted) were used for the analysis. The highest number of moulds were xerophilic species isolated on DG18 at 25°C (33), followed by mesophilic species (29) on RBCA medium at 25°C, and

mesophilic (22) and thermophilic species (10) on YpSs medium at 37° and 45°C, respectively. *Eurotium herbariorum* was isolated from all samples. A total of 287 strains belonging to 52 mould species were isolated from sunflower seeds.

Conclusion: The study revealed new species not previously isolated from sunflower seeds mycobiota.

Key words: moulds, sunflower seeds.

STRESZCZENIE

Wstęp: Celem pracy była ocena składu ilościowego i jakościowego grzybów zasiedlających nasiona słonecznika na podłożu RBCA, YpSs i DG18 w temperaturze 25, 37, 45°C.

Materiał: Materiał badawczy stanowiło 20 próbek nasion słonecznika (niesolonych i nieprażonych). Najwięcej wyizolowano gatunków kserofilnych na pożywce DG18 w 25°C (33), w dalszej kolejności gatunków mezofilnych na RBCA w 25°C (29) oraz

mezofilnych (22) i termofilnych (10) na pożywce YpSs (odpowiednio w 37°C i 45°C). Grzybem izolowanym ze wszystkich próbek był *Eurotium herbariorum*. Łącznie wyizolowano 287 szczepów należących do 52 gatunków.

Wnioski: Przeprowadzone badania wzbogaciły mykocenozę nasion słonecznika o nowe gatunki, dotychczas nieizolowane z nasion tego gatunku.

Słowa kluczowe: grzyby pleśniowe, nasiona słonecznika.

WSTĘP

Właściwości mikrobiologiczne żywności są jednym z elementów kształtujących jej walory organoleptyczne, jakość i bezpieczeństwo. Grzyby pleśniowe występujące w żywności mogą przyczyniać się do obniżania jej jakości oraz do występowania uczuleń i chorób ludzi oraz zwierząt [1, 2]. Literatura dotycząca występowania mikroorganizmów, przede wszystkim grzybów pleśniowych, w surowcach oraz produktach roślinnych jest dość obszerna. Dostępne są prace na temat grzybów pleśniowych zasiedlających środowiska o niskiej wilgotności, takie jak ziarna różnych gatunków zbóż [3, 4, 5, 6], pszenica i mąka pszenna [7], kukurydza [8, 9], ryż [9, 10, 11], ziarna kawy [12, 13] i kakao [14], orzechy [9, 15, 16, 17, 18, 19, 20], nasiona różnych gatunków roślin uprawnych [21, 22, 23, 24, 25], przyprawy i zioła [9, 15, 26, 27, 28, 29], a także świeże oraz suszone owoce i warzywa [30, 31, 32, 33, 34, 35]. Nieliczne są natomiast doniesienia na temat grzybów pleśniowych zasiedlających nasiona słonecznika (*Helianthus annus* L.), podczas gdy w czasie transportu i przechowywania, zwłaszcza w nieodpowiednich warunkach, mogą być one atakowane przez różne grzyby,

w tym kserofilne i kserotolerancyjne oraz termotolerancyjne i termofilne. W przekonaniu części konsumentów obecność grzybów kojarzona jest z żywnością o większym stopniu uwilgotnienia, ponieważ szybciej i w sposób widoczny gołym okiem ulega ona zapleśnieniu. Wydaje się, że brakuje powszechnej świadomości o tym, że nawet surowce o niskiej wilgotności (niskiej aktywności wody), takie jak np. nasiona słonecznika dostępne w sieciach handlowych, są narażone na niekorzystne oddziaływanie ze strony grzybów strzępkowych.

Celem pracy była ocena składu ilościowego i jakościowego grzybów pleśniowych zasiedlających nasiona słonecznika (*Helianthus annus* L.).

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym było 20 próbek nasion słonecznika (niezapleśniałych, niesolonych i nieprażonych) pochodzących z sieci handlowej. W celu określenia składu ilościowego i jakościowego grzybów zasiedlających nasiona wykonywano posiewy metodą kolejnych rozcieńczeń, wykorzystując jałowy

roztwór o składzie: 8,5 g NaCl, 1,0 g peptonu, 1000 cm³ wody destylowanej [36]. Aby jak najdokładniej ocenić liczebność i skład jakościowy grzybów, wykorzystano trzy pożywki stałe i trzy temperatury hodowli: 1) RBCA (Rose Bengal Chloramphenicol Agar) w 25°C, 2) YpSs (Yeast Powder Soluble Starch Agar; Emerson's agar medium) w 37°C do określenia spektrum grzybów mezofilnych i w 45°C do określenia składu grzybów termofilnych i termotolerancyjnych [37] oraz 3) DG 18 (Dichloran Glicerol 18) w 25°C do określenia spektrum grzybów kserotolerancyjnych i kserofilnych. Do wszystkich pożywek dodawano antybiotyk (chloramfenikol) w ilości 100 mg/1000 cm³ pożywki [36] i poddawano je sterylizacji w autoklawie (121°C, 20 min). Posiewy wykonywano w trzech powtórzeniach. Liczbę wyrosłych kolonii grzybowych podano jako jednostki tworzące kolonie (jtk) w 100 g nasion (jtk·100g⁻¹) w przeliczeniu na świeżą masę nasion. Oczyszczone hodowle grzybowe oznaczano do gatunku na podstawie ich cech makro- i mikromorfologicznych. Do identyfikacji izolatów wykorzystano wybrane monografie taksonomiczne [36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45].

W identyfikacji grzybów wykorzystano technikę mikrohodowli, wykonując preparaty w laktofenolu z dodatkiem barwnika cotton blue oraz w PVA (alkohol poliwinylowy – 1,66 g, kwas mlekowy – 10 cm³, gliceryna – 1 cm³, woda destylowana – 10 cm³). W celu uzyskania owocników płciowych grzybów stosowano pożywkę WA (Water Agar) lub OA (Oatmeal Agar). Inkubacje prowadzono w optymalnej dla danego gatunku grzybów temperaturze przez 1–2 miesiące [36]. Udział poszczególnych gatunków w mykobiocenozie nasion określono jako stosunek liczby szczepów danego gatunku do całkowitej liczby wyodrębnionych szczepów.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Excel oraz programu Statistica 8.0 (StatSoft) w środowisku Windows.

WYNIKI I DISKUSJA

Nasiona słonecznika różniły się między sobą pod względem ilości grzybów (tab. 1). Można przypuszczać, że spowodowane to było m.in. pochodzeniem nasion oraz zróżnicowanymi warunkami termiczno-wilgotnościowymi, jakie panowały w czasie transportu i późniejszego ich składowania w punktach sieci handlowej. Mogło to mieć również wpływ na skład jakościowy grzybów. Największe różnice dotyczyły składu grzybów termofilnych i termotolerancyjnych wyrosłych na podłożu YpSs w 45°C: począwszy od nasion, w których nie stwierdzono

ich obecności (6,6% próbek nasion), do takich, w których ich liczba wyniosła 3,3·10⁶ jtk·100 g⁻¹. Najmniejsze zróżnicowanie zaobserwowano w ilości grzybów wyrosłych na pożywce RBCA w 25°C (od 2,0·10⁴ do 1,5·10⁷ jtk·100 g⁻¹). Największą ilość grzybów (6,4·10⁶ jtk·100 g⁻¹) wyizolowano na podłożu DG18 w 25°C – były to gatunki kserofilne.

W ocenie mikrobiologicznej oprócz liczebności niezwykle istotny jest skład jakościowy drobnoustrojów. Skład gatunkowy grzybów zasiedlających nasiona słonecznika przedstawiono w tabeli 2. Liczba gatunków grzybów w poszczególnych próbkach nasion wahała się od 7 do 20. Gatunkami o częstości izolowania >20% były: *Eurotium herbariorum* (100%), *Absidia corymbifera* (100%), *Rhizomucor miehei* (90%), *Aspergillus flavus* (90%), *Aspergillus fumigatus* (80%), *Penicillium chrysogenum* (80%), *Penicillium commune* (70%), *Rhizopus oryzae* (65%), *Penicillium viridicatum* (65%), *Aspergillus candidus* (60%), *Penicillium simplicissimum* (55%), *Aspergillus versicolor* (55%), *Aspergillus niger* (50%), *Eurotium amstelodami* (45%), *Aspergillus terreus* (35%) oraz *Alternaria alternata* (25%), *Coonemeria crustacea* (25%), *Coonemeria verrucosa* (25%), *Eurotium chevalieri* (25%), *Emericella nidulans* (25%). Udział tych gatunków w mykobiocenozie nasion słonecznika (w stosunku do ogółu szczepów) mieścił się w zakresie od 1,7% (*Alternaria alternata*, *Coonemeria crustacea*, *Coonemeria verrucosa*, *Eurotium chevalieri*, *Emericella nidulans*) do 7% (*Absidia corymbifera*, *Eurotium herbariorum*). Gatunkiem występującym we wszystkich próbkach nasion był *Eurotium herbariorum* (anamorf *Aspergillus glaucus*), który należy do grzybów zasiedlających środowiska o obniżonej aktywności wody, czyli grzybów kserofilnych. Do tej grupy drobnoustrojów zalicza się te, które są zdolne do wzrostu w warunkach aktywności wody poniżej $a_w = 0,85$. Należy podkreślić, że grzyby dominujące w badanych próbkach nasion słonecznika zdolne są do wytwarzania mykotoksyn. Szczepy *E. herbariorum* syntetyzują patulinę, sterygmatozystynę, echinulinę, kladosporynę, neoechinulinę A i B, flawoglaucynę, auroglaucynę, fyscion, izotetrahydroglaucynę i epiheweadryd [46, 47]. Samson i wsp. [36] wykazali, że żywność zanieczyszczona *E. herbariorum* jest toksyczna dla królików i może powodować niestrawność u ludzi. Również szczepy *P. chrysogenum* zaliczane do kserofili, często izolowane z badanych próbek, znane są z wytwarzania mykotoksyn takich jak cytrynina, rokwefortyna C, patulina, PR-toksyna, ksantocylina X, kwas cyklopiazonowy i penicylinowy, meleagryna, chrysogin oraz ochratoksyna A [36, 46, 47, 48].

Skład gatunkowy grzybów, w zależności od zastosowanej pożywki agarowej i temperatury inkubacji, przedstawiono w tabeli 3. Najwięcej wyizolowano gatunków kserofilnych na pożywce DG18 w 25°C (33), w dalszej kolejności gatunków mezofilnych na RBCA w 25°C (29) oraz mezofilnych (22) i termofilnych (10) na pożywce YpSs odpowiednio w 37°C i 45°C. Otrzymane wyniki wskazują, że do wyodrębnienia jak największej liczby gatunków grzybów zasiedlających nasiona słonecznika najodpowiedniejsza jest temperatura inkubacji 25°C oraz pożywka DG18 polecana do wyodrębniania grzybów kserofilnych, a także standardowa pożywka do izolowania grzybów – RBCA.

TABELA 1. Liczba grzybów wyrosłych z nasion słonecznika w zależności od zastosowanej pożywki i temperatury inkubacji

Pożywka i temperatura inkubacji	Średnia (n = 20)	Minimum	Maksimum	Współczynnik zmienności
		jtk·100 g ⁻¹		
RBCA w 25°C	3,9·10 ⁶	2,0·10 ⁴	1,5·10 ⁷	1,22
DG18 w 25°C	6,4·10 ⁶	1,0·10 ³	3,3·10 ⁷	1,38
YpSs w 37°C	6,5·10 ⁵	0,0·10 ⁰	4,7·10 ⁶	1,88
YpSs w 45°C	3,3·10 ⁵	0,0·10 ⁰	3,3·10 ⁶	2,26

TABELA 2. Skład jakościowy grzybów mikroskopowych w nasionach słonecznika

Lp.	Gatunki grzybów	Liczba próbek, w których stwierdzono obecność gatunku	Częstość występowania (%)*	Udział w mykobiocenozie (%)
1	<i>Absidia corymbifera</i>	20	100	7,0
2	<i>Eurotium herbariorum</i>	20	100	7,0
3	<i>Aspergillus flavus</i>	18	90	6,3
4	<i>Rhizomucor miehei</i>	18	90	6,3
5	<i>Aspergillus fumigatus</i>	16	80	5,6
6	<i>Penicillium chrysogenum</i>	16	80	5,6
7	<i>Penicillium commune</i>	14	70	4,9
8	<i>Penicillium viridicatum</i>	13	65	4,5
9	<i>Rhizopus oryzae</i>	13	65	4,5
10	<i>Aspergillus candidus</i>	12	60	4,2
11	<i>Aspergillus versicolor</i>	11	55	3,8
12	<i>Penicillium simplicissimum</i>	11	55	3,8
13	<i>Aspergillus niger</i>	10	50	3,5
14	<i>Eurotium amstelodami</i>	9	45	3,1
15	<i>Aspergillus terreus</i>	7	35	2,4
16	<i>Alternaria alternata</i>	5	25	1,7
17	<i>Coonemeria crustacea</i>	5	25	1,7
18	<i>Coonemeria verrucosa</i>	5	25	1,7
19	<i>Emericella nidulans</i>	5	25	1,7
20	<i>Eurotium chevalieri</i>	5	25	1,7
21	<i>Penicillium hordei</i>	4	20	1,4
22	<i>Acremonium strictum</i>	3	15	1,0
23	<i>Mycelia sterilia</i> (biała)	3	15	1,0
24	<i>Penicillium cyclopium</i>	3	15	1,0
25	<i>Rhizopus stolonifer</i>	3	15	1,0
26	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	3	15	1,0
27	<i>Aspergillus penicillioides</i>	2	10	0,7
28	<i>Aspergillus sydowii</i>	2	10	0,7
29	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	10	0,7
30	<i>Exophiala jeanselmei</i>	2	10	0,7
31	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	2	10	0,7
32	<i>Penicillium brevicompactum</i>	2	10	0,7
33	<i>Penicillium canescens</i>	2	10	0,7
34	<i>Penicillium radicola</i>	2	10	0,7
35	<i>Ulocladium chartarum</i>	2	10	0,7
36	<i>Aspergillus awamori</i>	1	5	0,3
37	<i>Candida</i> sp.	1	5	0,3
38	<i>Chaetosartoria cremea</i>	1	5	0,3
39	<i>Cladosporium herbarum</i>	1	5	0,3
40	<i>Doratomyces microsporus</i>	1	5	0,3
41	<i>Mucor strictus</i>	1	5	0,3
42	<i>Paecilomyces crustaceus</i>	1	5	0,3
43	<i>Paecilomyces</i> sp.	1	5	0,3
44	<i>Penicillium capsulatum</i>	1	5	0,3
45	<i>Penicillium expansum</i>	1	5	0,3
46	<i>Penicillium fellutanum</i>	1	5	0,3
47	<i>Penicillium jensenii</i>	1	5	0,3
48	<i>Penicillium nalgiovense</i>	1	5	0,3
49	<i>Penicillium purpurogenum</i>	1	5	0,3
50	<i>Penicillium verrucosum</i>	1	5	0,3
51	<i>Rhizomucor pusillus</i>	1	5	0,3
52	<i>Verticillium tenerum</i>	1	5	0,3

* % próbek, w których stwierdzono występowanie grzyba

TABELA 3. Skład jakościowy grzybów wyizolowanych z nasion słonecznika w zależności od pożywki i temperatury inkubacji

Lp.	Gatunki grzybów	Pożywka i temperatura inkubacji			
		DG18 w 25°C	RBCA w 25°C	YpSs w 37°C	YpSs w 45°C
1	<i>Absidia corymbifera</i>	+	+	+	+
2	<i>Acremonium strictum</i>	+	–	–	–
3	<i>Alternaria alternata</i>	+	+	+	–
4	<i>Aspergillus awamori</i>	–	+	–	–
5	<i>Aspergillus candidus</i>	+	+	+	–
6	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	–
7	<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	+	+
8	<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	–
9	<i>Aspergillus penicillioides</i>	+	–	–	–
10	<i>Aspergillus sydowii</i>	+	–	–	–
11	<i>Aspergillus terreus</i>	+	+	+	+
12	<i>Aspergillus versicolor</i>	+	+	–	–
13	<i>Candida</i> sp.	–	+	–	–
14	<i>Chaetosartoria crenea</i>	+	–	–	–
15	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+	–	–	–
16	<i>Cladosporium herbarum</i>	+	–	–	–
17	<i>Coonemeria crustacea</i>	–	–	+	+
18	<i>Coonemeria verrucosa</i>	–	–	–	+
19	<i>Doratomyces microsporus</i>	–	–	+	–
20	<i>Emericella nidulans</i>	+	+	+	+
21	<i>Eurotium amstelodami</i>	+	+	+	–
22	<i>Eurotium chevalieri</i>	+	+	+	–
23	<i>Eurotium herbariorum</i>	+	+	–	–
24	<i>Exophiala jeanselmei</i>	–	+	–	–
25	<i>Mucor strictus</i>	+	–	–	–
26	<i>Mycelia sterilia</i> (biała)	+	+	+	–
27	<i>Paecilomyces crustaceus</i>	–	–	–	+
28	<i>Paecilomyces</i> sp.	–	–	+	–
29	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	+	+	–	–
30	<i>Penicillium brevicompactum</i>	–	+	–	–
31	<i>Penicillium canescens</i>	+	–	+	–
32	<i>Penicillium capsulatum</i>	–	–	+	–
33	<i>Penicillium chrysogenum</i>	+	+	–	–
34	<i>Penicillium commune</i>	+	+	–	–
35	<i>Penicillium cyclopium</i>	+	–	–	–
36	<i>Penicillium expansum</i>	–	+	–	–
37	<i>Penicillium fellutanum</i>	+	–	–	–
38	<i>Penicillium hordei</i>	+	+	–	–
39	<i>Penicillium jensenii</i>	–	+	–	–
40	<i>Penicillium nalgiovense</i>	+	–	–	–
41	<i>Penicillium purpurogenum</i>	–	–	+	–
42	<i>Penicillium radicola</i>	+	–	–	–
43	<i>Penicillium simplicissimum</i>	+	+	+	–
44	<i>Penicillium verrucosum</i>	–	+	–	–
45	<i>Penicillium viridicatum</i>	+	+	–	–
46	<i>Rhizomucor miehei</i>	–	–	+	+
47	<i>Rhizomucor pusillus</i>	–	–	+	–
48	<i>Rhizopus oryzae</i>	–	+	+	+
49	<i>Rhizopus stolonifer</i>	+	+	–	–
50	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	–	–	+	+
51	<i>Ulocladium chartarum</i>	–	+	–	–
52	<i>Verticillium tenerum</i>	+	–	–	–
Liczba gatunków		33	29	22	10

TABELA 4. Dane literaturowe dotyczące gatunków grzybów wyizolowanych z nasion słonecznika [2, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55]

Lp.	Grzyby wyodrębnione z nasion słonecznika	Lp.	Grzyby wyodrębnione z nasion słonecznika
1	<i>Absidia corymbifera</i>	26	<i>Humicola grisea</i>
2	<i>Acremonium fusidioides</i> , <i>A. strictum</i>	27	<i>Macrophomina phaseolina</i>
3	<i>Alternaria</i> sp., <i>A. alternata</i> , <i>A. zinniae</i>	28	<i>Memnoniella echinata</i>
4	<i>Arthrinium</i> sp.	29	<i>Microascus</i> sp.
5	<i>Arthrobotrys oligospora</i>	30	<i>Monascus</i> sp.
6	<i>Ascotricha</i> sp.	31	<i>Mucor</i> sp., <i>M. mucedo</i>
7	<i>Aspergillus</i> sp., <i>A. candidus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. glaucus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. sulphureus</i> , <i>A. tamarii</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. versicolor</i>	32	<i>Myrothecium verrucaria</i> , <i>M. roridum</i>
8	<i>Bipolaris australiensis</i> , <i>B. bisepata</i> , <i>B. hawaiiensis</i>	33	<i>Nigrospora</i> sp.
9	<i>Botryodiplodia theobromae</i>	34	<i>Paecilomyces</i> sp.
10	<i>Botrytis</i> sp., <i>B. cinerea</i>	35	<i>Penicillium</i> sp.
11	<i>Cephalosporium</i> sp.	36	<i>Phialophora verrucosa</i>
12	<i>Cephalophora</i> sp., <i>C. irregularis</i> , <i>C. tropica</i> ,	37	<i>Phoma</i> sp., <i>P. oberaceae</i>
13	<i>Chaetomium</i> sp., <i>C. bostrychodes</i> , <i>C. crispatum</i> , <i>C. globosum</i> , <i>C. spinosum</i>	38	<i>Phomopsis</i> sp.
14	<i>Circinella</i> sp.	39	<i>Puccinia helianthi</i>
15	<i>Cladosporium</i> sp., <i>C. cladosporioides</i>	40	<i>Rhizopus</i> sp., <i>R. stolonifer</i>
16	<i>Curvularia lunata</i> , <i>C. pallescens</i>	41	<i>Rhizoctonia</i> sp., <i>R. solani</i>
17	<i>Cylindrocarpon</i> sp.	42	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
18	<i>Drechslera halodes</i>	43	<i>Scopulariopsis</i> sp.
19	<i>Emericella</i> sp., <i>E. nidulans</i>	44	<i>Septoria helianthi</i>
20	<i>Eupenicillium</i> sp.	45	<i>Schizophyllum</i> sp.
21	<i>Eurotium</i> sp.	46	<i>Sordaria</i> sp.
22	<i>Epicoccum</i> sp.	47	<i>Stachybotrys atra</i>
23	<i>Exserophilum rostratum</i>	48	<i>Stemphylium</i> sp.
24	<i>Fusarium</i> sp., <i>F. chlamydosporum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. pallidoroseum</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. semitectum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. verticillioides</i>	49	<i>Syncephalastrum racemosum</i>
25	<i>Gonatobotrys simplex</i>	50	<i>Thermomyces</i> sp.
		51	<i>Thermoascus</i> sp.
		52	<i>Trichothecium roseum</i>
		53	<i>Trichothecium</i> sp.
		54	<i>Verticillium</i> sp., <i>Verticillium albo-atrum</i>
		55	<i>Ulocladium</i> sp.

Przeprowadzone badania wykazały, że z 20 próbek nasion słonecznika wyodrębniono 287 szczepów należących do 52 gatunków. W porównaniu z danymi z piśmiennictwa (tab. 4), wzbogacono mykocenozę nasion słonecznika o nowe gatunki, dotychczas z nich nieizolowane. Prawdopodobnie wynika to z faktu, że przytaczani autorzy izolowali grzyby ze zróżnicowanego materiału roślinnego. Badane przez nich próbki nasion były z pewnością niejednorodne pod względem rodzaju i ilości zanieczyszczeń, wilgotności, pochodziły z różnych regionów geograficznych i/lub były przechowywane w różnych warunkach termiczno-wilgotnościowych. Poza tym w cytowanych pracach (tab. 4) najczęściej stosowana była jedna pożywka agarowa i jedna temperatura inkubacji (zazwyczaj 25°C). W badaniach własnych do izolowania grzybów zastosowano trzy pożywki różniące się składem chemicznym i wartością pH (RBCA, DG18, YpSs), a inkubacje prowadzono w trzech temperaturach (25°C, 37°C i 45°C), co pozwoliło na wyizolowanie szerokiego spektrum grzybów o zróżnicowanych wymaganiach środowiskowych.

Wyizolowano następujące gatunki grzybów, które wcześniej nie były wyodrębniane z nasion słonecznika: *Acremonium strictum*, *Aspergillus awamori*, *A. candidus*, *A. penicillioides*, *A. sydowii*, *Candida* sp., *Cladosporium herbarum*, *Coonemeria*

verrucosa, *C. crustacea*, *Chaetosartoria cremea*, *Doratomyces microsporus*, *Eurotium herbariorum*, *E. amstelodami*, *E. chevalieri*, *Exophiala jeanselmei*, *Mucor strictus*, *Paecilomyces* sp., *P. crustaceus*, *P. aurantiogriseus*, *P. brevicompactus*, *P. capsulatus*, *P. canescens*, *P. chrysogenum*, *P. commune*, *P. cyclopius*, *P. expansus*, *P. fellutanus*, *P. hordei*, *P. jensenii*, *P. nalgiovensis*, *P. viridicatus*, *P. verrucosus*, *P. purpurogenus*, *P. radicola*, *P. simplicissimus*, *Rhizomucor miehei*, *R. pusillus*, *Rhizopus oryzae*, *Thermomyces lanuginosus*, *Ulocladium chartarum*, *Verticillium tenerum*. Niektóre z wymienionych grzybów (*Cladosporium*, *Emericella*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Thermomyces* i *Verticillium*) przytaczano w literaturze, ale zidentyfikowane były tylko do rodzaju.

WNIOSKI

1. Nasiona słonecznika bez widocznych oznak zapleśnienia były bogatym źródłem wielu gatunków grzybów, również termofilnych i kserofilnych.

2. Grzybem dominującym we wszystkich próbkach nasion słonecznika był gatunek *Eurotium herbariorum* zdolny do biosyntezy mikotoksyn.

3. Nasiona słonecznika, pomimo że są surowcem o niskiej wilgotności, stanowią mogą potencjalne zagrożenie związane z bezpieczeństwem i jakością żywności.

PIŚMIENNICTWO

- De Lucca A.J.: Harmful fungi in both agriculture and medicine. *Rev Iberoam Micol.* 2007, 24 (1), 3–13.
- Hadanich D., Peredi J., Juhasz-Roman M., Nagy B.: The effect of microorganisms deteriorating quality in storing sunflower seed. *Acta Alimentaria.* 2008, 37 (1), 77–86.
- Krysińska-Traczyk E., Kiecana I., Perkowski J., Dutkiewicz J.: Levels of fungi and mycotoxins in samples of grain and grain dust collected on farms in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2001, 8 (2), 269–274.
- Baliukoniene V., Bakutis B., Stankevicius H.: Mycological and mycotoxicological evaluation of grain. *Ann Agric Environ Med.* 2003, 10 (2), 223–227.
- Krysińska-Traczyk E., Perkowski J., Dutkiewicz J.: Levels of fungi and mycotoxins in the samples of grain and grain dust collected from five various cereal crops in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2007, 14 (1), 159–167.
- Jajić I., Jurić V., Abramović B.: First survey of deoxynivalenol occurrence in crops in Serbia. *Food Control.* 2008, 19, 545–550.
- Berghofer L.K., Hocking A.D., Miskelly D., Jansson E.: Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *Int J Food Microbiol.* 2003, 85 (1–2), 137–149.
- Niaz I., Dawar S.: Detection of seed borne mycoflora in maize (*Zea mays* L.). *Pak J Bot.* 2009, 41 (1), 443–451.
- Kumar V., Basu M.S., Rajendran T.P.: Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agriculture commodities. *Crop Protection.* 2008, 27 (6), 891–905.
- Pacin A.M., Gonzales H.H.L., Etcheverry M., Resnik S.L., Vivas L., Espin S.: Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia.* 2002, 156 (2), 87–92.
- Park J.W., Choi S.Y., Hwang H.J., Kim Y.B.: Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for human. *Int J Food Microbiol.* 2005, 103 (3), 305–314.
- Silv C.F., Schwan R.F., Dias E.S., Wheals A.E.: Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *Int J Food Microbiol.* 2000, 60 (2–3), 251–260.
- Batista L.R., Chalfoun S.M., Prado G., Schwan R.F., Wheals A.E.: Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). *Int J Food Microbiol.* 2003, 85, 293–300.
- Mounjouenpou P., Gueule D., Fontana-Tachon A., Guyot B., Tondje P.R., Guiraud J.P.: Filamentous fungi producing ochratoxin A during cocoa processing in Cameroon. *Int J Food Microbiol.* 2008, 121 (2), 234–241.
- Freire F.C., Kozakiewicz Z., Paterson R.R.: Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazilian nuts. *Mycopathologia.* 2000, 149 (1), 13–19.
- Overy D.P., Seifert K.A., Savard M.E., Frisvad J.C.: Spoilage fungi and their mycotoxins in commercially marketed chestnuts. *Int J Food Microbiol.* 2003, 88 (1), 69–77.
- Aliyu B.S., Kutama A.S.: Isolation and identification of fungal flora associated with groundnut in different storage facilities. *Sci World J.* 2007, 2 (2), 34–36.
- Khosravi A.R., Shokri H., Ziglari T.: Evaluation of fungal flora in some important nut products (pistachio, peanut, hazelnut and almond) in Tehran, Iran. *Pak J Nutr.* 2007, 6 (5), 460–462.
- Singh P.K., Shukla A.N.: Survey of mycoflora counts, aflatoxin production and induced biochemical changes in walnut kernels. *J Stored Prod Res.* 2008, 44 (2), 169–172.
- Youssef M.S., El-Maghraby O.M.O., Ibrahim Y.M.: Mycobiota and mycotoxins of Egyptian peanut (*Arachis hypogaea*) seeds. *Int J Bot.* 2008, 4 (4), 349–360.
- Weidenbörner M.: Pumpkin seeds – the mycobiota and potential mycotoxins. *Eur Food Res Technol.* 2012, 12, 281–297.
- Altan N., Khan S.A., Ahmad M., Asghar R.: Seed borne mycoflora of sesame (*Sesamum indicum* L.) and their effect on germination and seedling. *Pak J Biol Sci.* 2004, 7 (2), 243–245.
- Leichtfried D., Krist S., Puchinger L., Messner K., Buchbauer G.: Investigation of the natural microflora of poppy seeds (*Papaver somniferum*) and hazelnuts kernels (*Coryllus avellana*) including microbiological decomposition. *Eur Food Res Technol.* 2004, 219, 282–285.
- Domijan A.M., Peraica M., Zlender V., Cvjetkovic B., Zurjević Z., Topolovec-Pintarić S. et al.: Seed-borne fungi and ochratoxin A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia. *Food Chem Toxicol.* 2005, 43 (3), 427–432.
- Gruzdeviene E., Mankevičiene A., Laugauskas A., Repečkienė J.: The effect of environmental conditions on the variation of fungi and mycotoxin content in oil flax seed. *Ekologija.* 2006, 3, 64–70.
- Mandeeel Q.A.: Fungal contamination of some imported spices. *Mycopathologia.* 2005, 159 (2), 291–298.
- Khan S.N., Riaz T., Hannan A., Mukhtar I.: Fungal contamination of medicinal herbs during commercial storage in Punjab. *Mycopathologia.* 2006, 4 (1), 21–25.
- Abou Donia M.A.: Microbiological quality and aflatoxinogenesis of Egyptian spices and medicinal plants. *Global Veterinaria.* 2008, 2 (4), 175–181.
- Koul A., Sumbali G.: Detection of zearalenone, zearalenol and deoxynivalenol from medicinally important dried rhizomes and root tubers. *Afr J Biotechnol.* 2008, 7 (22), 4136–4139.
- Laugauskas A., Stakeniene J.: Toxin producing micromycetes of fruit, berries and vegetables. *Ann Agric Environ Med.* 2002, 9 (2), 183–197.
- Alghalibi S.M., Shater A.R.: Mycoflora and mycotoxin contamination of some dried fruits in Yemen Republic. *Ass Univ Bull Environ Res.* 2004, 7 (2), 19–25.
- Dymić G.R., Maletić Z.M., Kocić-Tanackov S.D.: Xerotolerant mycopopulations and mycotoxins in muesli components. *Proc Nat Sci Matica Srpska Novi Sad.* 2005, 109, 81–87.
- Laugauskas A., Repečkienė J., Novosinskas H.: Micromycetes, producers of toxins, detected on stored vegetables. *Ann Agric Environ Med.* 2005, 12 (2), 253–260.
- Moss M.O.: Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables. *J Appl Microbiol.* 2008, 104 (5), 1239–1243.
- Hell K., Gnonlonfin B.G., Kodjogbe G., Lamboni Y., Abdourhamane I.K.: Mycoflora and occurrence of aflatoxin in dried vegetables in Benin, Mali and Togo, West Africa. *Int J Food Microbiol.* 2009, 135 (2), 99–104.
- Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O.: Introduction to food- and airborne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2000.
- Del Fratte G., Caretta G.: Fungi isolated from Antarctic material. *Polar Biol.* 1990, 11, 1–7.
- Cooney D.G., Emerson R.: Thermophilic fungi. An account of their biology, activities and classification. W.H. Freeman and Company, San Francisco–London 1964.
- Raper K.B., Fennel K.D.: The genus *Aspergillus*. Krieger Publishing Company, Huntington–New York 1977.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H.: Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London–San Francisco 1980.
- Hoog de G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J.: Atlas of Clinical Fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures & Universitat Rovira i Virgili, Utrecht–Reus 2000.
- Klich M.A.: Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2000.
- Samson R.A., Pitt J.I.: Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus*. Harwood Publishers, Amsterdam 2000.
- Frisvad J.C., Samson R.A.: Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Stud Mycol.* 2004, 49, 1–174.
- Samson R.A., Frisvad J.C.: *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2004.
- Al-Julaifi M.Z., Al-Khalil A.S., Elkhider K.A.: Patulin production by fungi isolated from barley locally grown in Saudi Arabia. *J King Saud Univ Sci.* 1996, (8) 1, 19–24.
- Krikštaponis A., Stakėnienė J., Laugauskas A.: Toxigenic fungi in human environment. *Biologija.* 2001, 4, 10–12.
- Soroka P.M., Cyprowski M., Szadkowska-Stańczyk I.: Narażenie zawodowe na mykotosyny w różnych gałęziach przemysłu. *Med Pr.* 2008, 59 (4), 333–345.

49. Robertson J.A., Roberts R.G., Chapman W.: An evaluation of "heat damage" and fungi in relation to sunflower seed quality. *Phytopathology*. 1985, 75 (2), 142–145.
50. Robertson J.A., Roberts R.G., Morrison W.H.: Chemical and fungal evaluation of graded sunflowerseed. *J Am Oil Chem Soc*. 1987, 64 (2), 224–228.
51. Jimenez M., Mateo R., Querol A., Huberta T., Hernandez E.: Mycotoxins and mycotoxigenic moulds in nuts and sunflower seeds for human consumption. *Mycopathologia*. 1991, 115 (2), 121–127.
52. Shahda W.T., Tarabeih A.M., Michail S.H., Hemeda A.A.H.: Fungi associated with sunflower seeds in Egypt with reference to chemical control measures. *J King Saud Univ Sci*. 1991, 3 (2), 287–293.
53. Pozzi C.R., Braghini R., Arcaro J.R., Zorzete P., Israel A.L., Pozar I.O. et al.: Mycoflora and occurrence of alternariol and alternariol monomethyl ether in Brazilian sunflower from sowing to harvest. *J Agr Food Chem*. 2005, 53 (14), 5824–5828.
54. Sharfun-Nahar M.M., Mushtaq M., Hashmi M.H.: Seed-borne mycoflora of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Pak J Bot*. 2005, 37 (2), 451–457.
55. Raj M.H., Niranjana S.R., Nayaka S.C., Shetty H.S.: Health status of farmers saved paddy, sorghum, sunflower and cowpea seeds in Karnataka, India. *World J Agric Sci*. 2007, 3 (2), 167–177.