Badania składu ilościowego i jakościowego grzybów zasiedlających nasiona soi (*Glycine max* L.)

Study on the quantitative and qualitative of fungi colonizing soybeans (*Glycine max* L.)

Katarzyna Janda, Jolanta Wolska

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

SUMMARY

The aim of study was to analyse the qualitative and quantitative composition of fungi in soybeans on RBCA, YpSs, and DG18 culture media at 25, 37 and 45°C. The analysis included 15 samples of soybeans. The highest number of mould species (23) were isolated on RBCA at 25°C, followed by xerophilic species (20) on DG18 at 25°C, and mesophilic (13) and

thermophilic species (4) on YpSs medium at 37° and 45°C, respectively. Ninety-five strains belonging to 40 species were isolated from soybean samples. The predominant species were *Penicillium chrysogenum* and *Eurotium herbariorum*. This study revealed new species of mycobiota not previously isolated from soybeans.

Key words: moulds, soybeans, *Glycine max*.

STRESZCZENIE

Celem pracy była ocena składu ilościowego i jakościowego grzybów zasiedlających nasiona soi na podłożu RBCA, YpSs, DG18 w temperaturze 25, 37, 45°C. Materiałem badawczym było 15 próbek nasion soi. Najwięcej gatunków (23) wyizolowano na pożywce RBCA w 25°C, nieco mniej gatunków kse-rofilnych (20) na DG18 w 25°C, a w dalszej kolejności na YpSs

w 37°C i 45°C (odpowiednio 13 i 4). Z nasion soi wyizolowano 95 szczepów należących do 40 gatunków. Gatunkami dominującymi były *Penicillium chrysogenum* i *Eurotium herbariorum*. Przeprowadzone badania wzbogaciły mykocenozę nasion soi o nowe gatunki, których dotychczas nie izolowano z tego surowca.

Słowa kluczowe: grzyby pleśniowe, nasiona soi, *Glycine max*.

WSTĘP

Drobnoustroje, zwłaszcza grzyby strzępkowe, ze względu na zdolności adaptacyjne do skrajnych warunków środowiska, przysparzają problemów w wielu dziedzinach życia i gospodarki. Są potencjalnie istotnym zagrożeniem w przemyśle spożywczym, przyczyniają się do psucia oraz obniżania jakości surowców oraz produktów żywnościowych, powodując przy tym znaczne straty ekonomiczne [1, 2, 3, 4]. Ich obecność w środowisku może być przyczyną uczuleń i chorób zarówno ludzi, jak i zwierząt [2].

Dostępne są prace na temat tych drobnoustrojów zasiedlających środowiska o niskiej wilgotności, takie jak ziarna różnych gatunków roślin zbożowych i ich przetwory [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12], ziarno kawy [13, 14], kakao [15, 16], orzechy [12, 17, 18, 19, 20], przyprawy i zioła [21, 22, 23, 24, 25, 26], a także świeże oraz suszone owoce i warzywa [27, 28, 29, 30, 31, 32]. Dowiedziano, że również nasiona roślin oleistych są źródłem licznych gatunków pleśni [3, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46].

Celem pracy było określenie występowania grzybów pleśniowych w nasionach soi (*Glycine max* L.).

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym było 15 próbek suchych nasion soi (*Glycine max* L.), bez śladów zapleśnienia, które pochodziły z sieci handlowej. W celu dokładnego określenia składu ilościowego i jakościowego grzybów wykonywano posiewy metodą kolejnych rozcieńczeń. Do wykonania 10-krotnych rozcieńczeń wykorzystano jałowy roztwór o składzie: 8,5 g NaCl, 1,0 g peptonu, 1000 cm³ wody destylowanej [47]. Wykorzystano trzy pożywki i trzy temperatury inkubacji: 1) RBCA (Rose Bengal Chloramphenicol Agar): pepton mykologiczny 5,0 g, glukoza 10,0 g, K₂HPO₄ 1,0 g, MgSO₄·7H₂O 0,5 g, róż bengalski 0,05 g, agar 15,0 g, woda destylowana 1000,0 cm³; pH 7,2 w 25°C, 2) YpSs (Yeast Powder Soluble Starch Agar; Emerson's agar medium): ekstrakt drożdżowy 4,0 g, skrobia rozpuszczalna 15,0 g, K₂HPO₄ 1,0 g, MgSO₄·7H₂O 0,5 g, agar 15,0 g, woda destylowana 1000,0 cm³; pH 7,0 w 37°C do określenia spektrum grzybów mezofilnych oraz w 45°C do określenia składu grzybów termofilnych i termotolerancyjnych, 3) DG18 (Dichloran Glicerol Agar): pepton 5,0 g, glukoza 10,0 g, KH₂PO₄ 1,0 g, MgSO₄·7H₂O 0,5 g, dichloran 0,002 g, agar 15,0 g, woda destylowana 1000,0 cm³; pH 5,6 w 25°C do określenia spektrum

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

Pożywka i temperatura inkubacji	Średnia	Minimum	Maksimum	Współczynnik zmienności
		jtk·100 g ⁻¹		
DG18 w 25°C	1,4·10 ⁵	3,8·10 ²	1,2·10 ⁶	2,39
RBCA w 25°C	4,2·10 ⁴	1,0·10 ²	6,0·10 ⁵	3,71
YpSs w 37°C	3,2·10 ²	2,5·10 ¹	1,6·10 ³	1,26
YpSs w 45°C	1,3·10 ²	2,5·10 ¹	5,7·10 ²	1,19

grzybów kserotolerancyjnych i kserofilnych. Do wszystkich pożywek dodawano chloramfenikol w ilości 100 mg/1000,0 cm³ podłoża [47]. Posiewy wykonywano w trzech powtórzeniach. Czyste kultury grzybów oznaczano do gatunku na podstawie ich cech makro- i mikromorfologicznych [48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55]. Do identyfikacji szczepów wykorzystano technikę mikrohodowli oraz preparaty wykonane w laktopenolu z dodatkiem barwnika cotton blue i w PVA [56]. Udział poszczególnych gatunków w mykobiocenozie nasion określono jako stosunek szczepów danego gatunku do ogólnej ilości wyodrębnionych szczepów. Liczbę grzybów przedstawiono jako jednostki tworzące kolonie w 100 g świeżej masy nasion (jtk·100 g⁻¹ ś. m). Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Excel oraz programu Statistica 8.0.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYKUSJA

Próbki nasion soi różniły się między sobą liczbą zasiedlających je grzybów. Największe różnice pod względem liczby grzybów stwierdzono na podłożu RBCA w 25°C (1,0·10²–6,0·10⁵ jtk/100g⁻¹), zaś najmniejsze na YpSs w 37°C (2,5·10¹–1,6·10³ jtk·100g⁻¹). Największą liczbę grzybów (1,4·10⁵ jtk·100g⁻¹) wyizolowano na podłożu DG18 w 25°C (tab. 1), w związku z czym podłoże to wydaje się być najlepszym do określania liczebności grzybów mikroskopowych zasiedlających nasiona soi.

Skład jakościowy grzybów zasiedlających nasiona soi przedstawiono w tabeli 2. Łącznie wyizolowano 95 szczepów należących do 40 gatunków. Liczba gatunków w próbkach wahała się w zakresie 2–14. Gatunkami o częstości izolowania powyżej 20% były: *Penicillium chrysogenum* (100%), *Eurotium herbariorum* (73,3%), *Aspergillus fumigatus* (46,7%), *Aspergillus versicolor* (40%), *Aspergillus sydowii* (26,7%) oraz *Rhizopus oryzae* (26,7%). Udział tych gatunków w mykobiocenozie nasion soi (w stosunku do ogółu szczepów) mieścił się w zakresie od 4,2% (*Aspergillus sydowii*, *Rhizopus oryzae*) do 15,8% (*Penicillium chrysogenum*).

Skład jakościowy grzybów wyizolowanych z nasion soi na poszczególnych pożywkach i w określonych temperaturach przedstawiono w tabeli 3.

Najwięcej gatunków (23) wyizolowano na pożywce RBCA w 25°C, nieco mniej gatunków na DG18 w 25°C (20), a w dalszej kolejności na YpSs w 37°C i 45°C (odpowiednio 13 i 4). Badania wskazują, że do wyodrębnienia z nasion soi jak największej liczby gatunków najodpowiedniejsza jest temperatura 25°C

oraz standardowa pożywka RBCA, a także DG18, która polecana jest do wyodrębniania grzybów kserofilnych.

Z zestawienia przedstawionego w tabeli 4 wynika, że dotychczas z nasion soi wyodrębniono 74 rodzaje grzybów. Badania własne dowiodły, że nasiona tego gatunku oprócz wymienionych grzybów zasiedlają również: *Aspergillus versicolor*, *A. penicillioidei*, *A. tamarii*, *A. unguis*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Emmericella nidulans*, *Geomyces pannorum*, *Metarhizium anisopliae*, *Mucor circinelloides*, *Penicillium arenicola*, *P. canescens*, *P. commune*, *P. cyclopium*, *P. hordei*, *P. jensenii*, *P. miczynskii*, *P. nigricans*, *P. radicola*, *P. spinulosum*, *P. verrucosum*, *Rhizopus oryzae* oraz *Wardomyces columbinus*.

Należy podkreślić, że autorzy zajmujący się określaniem mykobiocenozy nasion soi najczęściej stosowali jedno podłoże mikrobiologiczne i jedną temperaturę inkubacji. Można więc przypuszczać, że wyizolowanie z nasion soi gatunków, które dotychczas nie były z nich wyodrębniane, możliwe było dzięki temu, iż w niniejszej pracy zastosowano różne pożywki, a inkubacje prowadzono w trzech temperaturach. Pożywki różniły się między sobą składnikami pokarmowymi, wartością pH i aktywności wody. Te czynniki w połączeniu w różną temperaturą hodowli pozwoliły na wyodrębnienie szerokiego spektrum grzybów mikroskopowych, włącznie z gatunkami kserofilnymi, termotolerancyjnymi i termofilnymi.

WNIOSKI

1. Nasiona soi bez widocznych oznak zapleśnienia, dostępne w sieci handlowej, okazały się bogatym źródłem wielu gatunków grzybów strzępkowych.
2. Gatunkami dominującymi były *Penicillium chrysogenum* i *Eurotium herbariorum*, grzyby o potencjalnych właściwościach toksynotwórczych.
3. Otrzymane wyniki wskazują, że grzyby pleśniowe występujące na nasionach soi stanowią potencjalne źródło zanieczyszczenia mikrobiologicznego żywności.

PISMIENICTWO

1. Adamczak M., Bednarski W.: Metody pomiaru aktywności lipolitycznej lipaz w mleku i przetworach mleczarskich. Przegląd Mleczarski. 2002, 10, 442–447.
2. De Lucca A.J.: Harmful fungi in both agriculture and medicine. Rev Iberoam Micol. 2007, 24 (1), 3–13.

TABELA 2. Skład jakościowy grzybów wyizolowanych z nasion soi 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>Alternaria alternata</i>	+	–	+	–
3.	<i>Aspergillus candidus</i>	+	+	–	–
4.	<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	+	+
5.	<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	+	+
6.	<i>Aspergillus niger</i>	–	+	–	–
7.	<i>Aspergillus penicillioides</i>	+	–	–	–
8.	<i>Aspergillus sydowii</i>	–	+	+	–
9.	<i>Aspergillus tamarii</i>	–	–	+	–
10.	<i>Aspergillus terreus</i>	–	–	+	–
11.	<i>Aspergillus unguis</i>	–	+	–	–
12.	<i>Aspergillus versicolor</i>	+	+	–	–
13.	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+	–	–	–
14.	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	+	–	–	–
15.	<i>Colletotrichum</i> sp.	–	+	–	–
16.	<i>Emericella nidulans</i>	–	–	–	+
17.	<i>Eurotium amstelodami</i>	–	–	+	–
18.	<i>Eurotium chevalieri</i>	–	–	+	–
19.	<i>Eurotium herbariorum</i>	+	+	–	–
20.	<i>Geomyces pannorum</i>	–	+	–	–
21.	<i>Metarhizium anisopliae</i>	–	+	–	–
22.	<i>Mucor circinelloides</i>	+	+	+	–
23.	<i>Mycelia sterilia</i> (biała)	+	+	–	–
24.	<i>Penicillium arenicola</i>	–	+	–	–
25.	<i>Penicillium brevicompactum</i>	–	+	–	–
26.	<i>Penicillium canescens</i>	+	–	–	–
27.	<i>Penicillium chrysogenum</i>	+	+	+	–
28.	<i>Penicillium citrinum</i>	+	–	+	–
29.	<i>Penicillium commune</i>	+	+	–	–
30.	<i>Penicillium cyclopium</i>	+	+	–	–
31.	<i>Penicillium hordei</i>	–	+	–	–
32.	<i>Penicillium jensenii</i>	+	–	–	–
33.	<i>Penicillium miczynskii</i>	–	+	–	–
34.	<i>Penicillium nigricans</i>	–	+	–	–
35.	<i>Penicillium radicola</i>	+	–	–	–
36.	<i>Penicillium spinulosum</i>	+	–	–	–
37.	<i>Penicillium viridicatum</i>	+	+	–	–
38.	<i>Penicillium verrucosum</i>	+	–	–	–
39.	<i>Rhizopus oryzae</i>	–	+	+	–
40.	<i>Wardomyces columbinus</i>	–	+	–	–
Suma gatunków		20	23	13	4

TABELA 3. Skład jakościowy grzybów mikroskopowych w próbkach nasion soi

L.p.	Gatunki grzybów	Liczba próbek, w których stwierdzono obecność gatunku	Częstość występowania (%) [*]	Udział w mykobiocenozie (%)
1.	<i>Penicillium chrysogenum</i>	15	100,0	15,8
2.	<i>Eurotium herbariorum</i>	11	73,3	11,6
3.	<i>Aspergillus fumigatus</i>	7	46,7	7,4
4.	<i>Aspergillus versicolor</i>	6	40,0	6,3
5.	<i>Aspergillus sydowii</i>	4	26,7	4,2
6.	<i>Rhizopus oryzae</i>	4	26,7	4,2
7.	<i>Aspergillus unguis</i>	3	20,0	3,2
8.	<i>Mycelia sterilia</i> (biała)	3	20,0	3,2
9.	<i>Penicillium miczynskii</i>	3	20,0	3,2
10.	<i>Alternaria alternata</i>	2	13,3	2,1
11.	<i>Aspergillus candidus</i>	2	13,3	2,1
12.	<i>Aspergillus flavus</i>	2	13,3	2,1
13.	<i>Emericella nidulans</i>	2	13,3	2,1
14.	<i>Penicillium citrinum</i>	2	13,3	2,1
15.	<i>Penicillium commune</i>	2	13,3	2,1
16.	<i>Penicillium cyclopium</i>	2	13,3	2,1
17.	<i>Penicillium viridicatum</i>	2	13,3	2,1
18.	<i>Absidia corymbifera</i>	1	6,7	1,1
19.	<i>Aspergillus niger</i>	1	6,7	1,1
20.	<i>Aspergillus penicillioides</i>	1	6,7	1,1
21.	<i>Aspergillus tamarii</i>	1	6,7	1,1
22.	<i>Aspergillus terreus</i>	1	6,7	1,1
23.	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	6,7	1,1
24.	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	1	6,7	1,1
25.	<i>Colletotrichum</i> sp.	1	6,7	1,1
26.	<i>Eurotium amstelodami</i>	1	6,7	1,1
27.	<i>Eurotium chevalieri</i>	1	6,7	1,1
28.	<i>Geomyces pannorum</i>	1	6,7	1,1
29.	<i>Metarhizium anisopliae</i>	1	6,7	1,1
30.	<i>Mucor circinelloides</i>	1	6,7	1,1
31.	<i>Penicillium arenicola</i>	1	6,7	1,1
32.	<i>Penicillium brevicompactum</i>	1	6,7	1,1
33.	<i>Penicillium canescens</i>	1	6,7	1,1
34.	<i>Penicillium hordei</i>	1	6,7	1,1
35.	<i>Penicillium jensenii</i>	1	6,7	1,1
36.	<i>Penicillium nigricans</i>	1	6,7	1,1
37.	<i>Penicillium radicola</i>	1	6,7	1,1
38.	<i>Penicillium spinulosum</i>	1	6,7	1,1
39.	<i>Penicillium verrucosum</i>	1	6,7	1,1
40.	<i>Wardomyces columbinus</i>	1	6,7	1,1

* % próbek, w których stwierdzono występowanie grzyba

TABELA 4. Grzyby wyodrębnione z nasion soi [34, 35, 37, 38, 42, 43, 45, 46, 57, 58, 59, 60, 61]

L.p.	Grzyby wyodrębnione z nasion soi	L.p.	Grzyby wyodrębnione z nasion soi
1.	<i>Absidia</i> sp., <i>A. corymbifera</i>	36.	<i>Macrophomina phaseolina</i>
2.	<i>Acremonium</i> sp., <i>A. strictum</i>	37.	<i>Microascus trigonosporus</i>
3.	<i>Anixiopsis</i> sp.	38.	<i>Mucor</i> sp., <i>M. plumbeus</i> , <i>M. circinelloides</i> , <i>M. hiemalis</i> , <i>M. racemosus</i>
4.	<i>Arthrinium phaeospermum</i>	39.	<i>Mycelia sterilia</i>
5.	<i>Alternaria</i> sp., <i>A. alternate</i> , <i>A. altrans</i> , <i>A. brassicae</i> , <i>A. longipes</i> , <i>A. longissima</i> , <i>A. tenuissima</i>	40.	<i>Myrothecium</i> sp., <i>M. roridum</i> , <i>M. verrucaria</i>
6.	<i>Aspergillus</i> sp., <i>A. alutaceus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. equities</i> (<i>A. chevalieri</i>), <i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. halophilicus</i> , <i>A. hollandicus</i> (<i>A. amstelodami</i>), <i>A. melleus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. sulphureus</i> , <i>A. repens</i> (<i>A. reptans</i> , <i>A. restrictus</i>), <i>A. rubrobrunneus</i> (<i>A. ruber</i>), <i>A. sydowii</i> , <i>A. terreus</i>	41.	<i>Nectria haematococca</i>
7.	<i>Bipolaris specifera</i> (<i>Helminthosporium</i>)	42.	<i>Nematospora coryli</i>
8.	<i>Botryopodia theobromae</i>	43.	<i>Neosartorya fischeri</i>
9.	<i>Botrytis cinerea</i>	44.	<i>Nigrospora</i> spp., <i>N. oryzae</i> , <i>N. sphaerica</i>
10.	<i>Cephalosporiopsis</i> sp.	45.	<i>Nodulisporium</i> spp.
11.	<i>Cephalosporium</i> sp.	46.	<i>Paecilomyces</i> spp.
12.	<i>Cercospora kikuchii</i> , <i>C. sojae</i>	47.	<i>Penicillium</i> spp., <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>P. brevicompactum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>P. islandicum</i> , <i>P. oxalicum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>Penicillium</i> spp. subgenus <i>Penicillium</i>
13.	<i>Chaetomium</i> spp., <i>C. cupreum</i> , <i>C. erectum</i> , <i>C. funicola</i> , <i>C. globosum</i>	48.	<i>Periconia circinata</i> , <i>P. macrospinosia</i>
14.	<i>Cladosporium</i> spp., <i>C. cladosporioides</i> , <i>C. herbarum</i>	49.	<i>Peronospora manshurica</i>
15.	<i>Colletotrichum</i> spp., <i>C. capsici</i> , <i>C. dematium</i> , <i>C. destructivum</i> , <i>C. gloeosporioides</i> , <i>C. truncatum</i>	50.	<i>Pestalotia</i> sp.
16.	<i>Corynespora cassiicola</i>	51.	<i>Phialophora gregata</i> , <i>P. chartarum</i>
17.	<i>Curvularia</i> spp., <i>C. lunata</i> , <i>C. lunata</i> var. <i>aeria</i>	52.	<i>Phoma</i> spp., <i>P. glomerata</i>
18.	<i>Cunninghamella echinulata</i>	53.	<i>Phomopsis longicolla</i> , <i>P. phaseoli</i>
19.	<i>Cylindrocarpon</i> sp.	54.	<i>Phyllosticta</i> spp., <i>P. sojicola</i>
20.	<i>Diplodia</i> sp.	55.	<i>Phytophthora megasperma</i>
21.	<i>Drechslera australiensis</i> , <i>D. hawaiiensis</i> , <i>D. sorokiniana</i> , <i>D. specifera</i> , <i>D. biseptata</i>	56.	<i>Podospora anserina</i> , <i>P. verruculosa</i>
22.	<i>Emericella nidulans</i>	57.	<i>Pyricularia grisea</i>
23.	<i>Epicoccum</i> sp., <i>E. nigrum</i> (<i>E. purpurascens</i>)	58.	<i>Pythium debaryanum</i>
24.	<i>Eurotium</i> sp., <i>E. amstelodami</i> , <i>E. chevalieri</i> , <i>E. repens</i> , <i>E. rubrum</i>	59.	<i>Rhizoctonia</i> sp., <i>R. solani</i>
25.	<i>Diaporthe phaseolorum</i> , <i>Diaporthe phaseolorum</i> var. <i>sojae</i>	60.	<i>Rhizomucor pusillus</i>
26.	<i>Fusarium</i> spp., <i>F. acuminatum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. pallidoroseum</i> (<i>F. semitectum</i>), <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. tricinctum</i>	61.	<i>Rhizopus nigricans</i> , <i>R. stolonifer</i>
27.	<i>Gaeumannomyces cingulata</i> , <i>G. glycines</i>	62.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
28.	<i>Geniculosporium</i> spp.	63.	<i>Sclerotium rolfsii</i>
29.	<i>Gliocladium</i> sp., <i>G. roseum</i>	64.	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
30.	<i>Gonatobotrys</i> spp.	65.	<i>Septoria glycines</i>
31.	<i>Harzia acremonioides</i>	66.	<i>Sordaria fimicola</i>
32.	<i>Helminthosporium</i> spp.	67.	<i>Sporormiella minima</i>
33.	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	68.	<i>Stemphylium</i> sp.
34.	<i>Leptosphaerulina</i> sp.	69.	<i>Thielavia basicola</i>
35.	<i>Macrophoma</i> sp.	70.	<i>Trichoderma</i> sp., <i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i>
		71.	<i>Triothecium roseum</i> (<i>Cephalothecium roseum</i>)
		72.	<i>Verticicladium</i> sp.
		73.	<i>Verticillium dahliae</i> , <i>V. nigrescens</i> , <i>V. tenerum</i> (<i>V. cinnabarinum</i>)
		74.	<i>Volutella</i> sp.

3. Hadanich D., Juhasz-Roman M., Nagy B.: The effect of microorganisms deteriorating quality in storing sunflower seed. *Acta Alimentaria*. 2008, 37 (1), 77–86.
4. Horoszkiewicz-Janka J., Jajor E., Korbas M.: Wpływ grzybów toksynotwórczych na wybrane cechy jakościowe plonu zbóż i rzepaku. *Prog Plant Prot Post Ochr Roślin*. 2008, 48 (3), 1039–1047.
5. 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.
6. 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.
7. Hashmi F.M., Ghaffar A.: Seed-borne mycoflora of wheat, sorghum and barley. *Pakistan J Bot*. 2006, 38 (1), 185–192.
8. Jajić I., Jurić V., Abramović B.: First survey of deoxynivalenol occurrence in crops in Serbia. *Food Control*. 2008, 19, 545–550.
9. Tabuc C., Marin D., Guerre P., Sesan T., Bailly J.D.: Molds and mycotoxin content of cereals in southeastern Romania. *J Food Prot*. 2009, 71 (3), 662–665.
10. 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.
11. Niaz I., Dawar S.: Detection of seed borne mycoflora in maize (*Zea mays* L.). *Pakistan J Bot*. 2009, 41 (1), 443–451.
12. Kumar V., Basu M.S., Rajendran T.P.: Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agriculture commodities. *Crop Prot*. 2008, 27 (6), 891–905.
13. Silva C.F., Schwan R.F., Dias E.S., Wheels 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.
14. Batista L.R., Chalfoun S.M., Prado G., Schwan R.F., Wheels A.E.: Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). *Int J Food Microbiol*. 2003, 85 (3), 293–300.
15. 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.
16. Sánchez-Hervás M., Gil J.V., Bisbal F., Ramon D., Martínez-Culebras P.V.: Mycobiota and mycotoxin producing fungi from cocoa beans. *Int J Food Microbiol*. 2008, 125 (3), 336–340.
17. 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.
18. 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.
19. 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, 169–172.
20. 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.
21. Janda K., Ulfig K.: Badania składu ilościowego i jakościowego grzybów w suszach roślin leczniczych. *Rocz Państw Zakł Hig*. 2005, 56 (4), 331–338.
22. Janda K., Ulfig K.: A comparison of selected media and incubation temperatures for isolation of microscopic fungi from dried medicinal plants. *Rocz Państw Zakł Hig*. 2006, 57 (3), 267–276.
23. Mandeel Q.A.: Fungal contamination of some imported spices. *Mycopathologia*. 2005, 159 (2), 291–298.
24. 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.
25. Abou Donia M.A.: Microbiological quality and aflatoxinogenesis of Egyptian spices and medicinal plants. *Global Veterinaria*. 2008, 2 (4), 175–181.
26. 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.
27. Laugauskas A., Stakeniene J.: Toxin producing micromycetes of fruit, berries and vegetables. *Ann Agric Environ Med*. 2002, 9, 183–197.
28. Alghalibi S.M.S., Shater A.R.M.: Mycoflora and mycotoxin contamination of some dried fruits in Yemen Republic. *Ass Univ Bull Environ Res*. 2004, 7 (2), 19–25.
29. 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.
30. Laugauskas A., Repečienė J., Novosinskas H.: Micromycetes, producers of toxins, detected on stored vegetables. *Ann Agric Environ Med*. 2005, 12 (2), 253–260.
31. Moss M.O.: Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables. *J Appl Microbiol*. 2008, 104 (5), 1239–1243.
32. 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.
33. Kornitowicz-Kowalska T., Szwed A., Szwed G.: Charakterystyka mykologiczna nasion rzepaku w zależności od warunków ich przechowywania. *Acta Agrophysica*. 2008, 37, 83–93.
34. Roy K.W., Baird R.E., Abney T.S.: A review of soybean (*Glycine max*) seed, pod and flower mycofloras in North America, with methods and a key for identification of selected fungi. *Mycopathologia*. 2000, 150 (1), 15–27.
35. Bhattacharya K., Raha S.: Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage. *Mycopathologia*. 2002, 55 (3), 135–141.
36. Pacin A.M., Gonzales H.H., Etcheverry M., Resnik S.L., Vivas L., Espin S.: Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia*. 2002, 156 (2), 87–92.
37. Kacanovia M.: Feeding soybean colonization by microscopic fungi. *Trakya Univ J Sci*. 2003, 4 (2), 165–168.
38. Nasir N.: Detecting seed borne fungi of soybean by different incubation methods. *Pak J Plant Path*. 2003, 2 (2), 114–118.
39. 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 Agric Food Chem*. 2005, 53 (14), 5824–5828.
40. Sharfun-Nahar M.M., Mushtaq M., Hashmi M.H.: Seed-borne mycoflora of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Pakistan J Bot*. 2005, 37 (2), 451–457.
41. Brazauskienė I., Petratiene E., Makeviciene A.: Effects of genotype and environmental factors on rape seed contamination with mycotoxins and mycotoxin-producing fungi. *Ekologija*. 2006, 3, 14–20.
42. Broggi L.E., Gonzales H.H., Resnik S.L., Pacin A.: *Alternaria alternata* prevalence in cereal grains and soybean seeds from Entre Rios, Argentina. *Rev Iberoam Micol*. 2007, 24 (1), 47–51.
43. Medić-Pap S., Milošević M., Jasnić S.: Soybean seed-borne fungi in the Vojvodina province. *Phytopathol Pol*. 2007, 45, 55–65.
44. 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.
45. Ezekiel C.N., Odebode A.C., Fapohunda S.O.: Zearalenon production by naturally occurring *Fusarium* species on maize, wheat and soybean from Nigeria. *J Biol Environ Sci*. 2008, 2 (6), 77–82.
46. Haikal N.Z.: Effect of filtrates of pathogenic fungi of soybean on seed germination and seedling parameters. *J Appl Sci Res*. 2008, 4 (1), 48–52.
47. Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O.: Introduction to food- and airborne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2000.
48. Cooney D.G., Emerson R.: Thermophilic fungi. An account of their biology, activities and classification. W.H. Freeman and Company, San Francisco–London 1964.
49. Raper K.B., Fennel K.D.: The genus *Aspergillus*. Krieger Publishing Company, Huntington–New York 1977.
50. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H.: Compendium of soil fungi. Academic Press, London–San Francisco 1980.
51. Hoog de G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J.: Atlas of clinical fungi. 2nd Edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures & Universitat Rovira i Virgili, Utrecht–Reus 2000.
52. Klich M.A.: Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2000.
53. Samson R.A., Pitt J.I.: Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Harwood Publishers, Amsterdam 2000.
54. 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.
55. Samson R.A., Frisvad J.C.: *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extralites. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2004.
56. Prochacki H.: Podstawy mikologii lekarskiej. PZWL, Warszawa 1975.
57. Hesseltine C.W., Rogers R.F., Bothast R.J.: Microbiological study of exported soybeans. *Cereal Chem*. 1978, 55 (3), 332–340.

58. *El-Kady I.A., Youssef M.S.*: Survey of mycoflora and mycotoxins in Egyptian soybean seeds. *J Basic Microbiol.* 1993, 33 (6), 371–378.
59. *Tseng T.C., Tu J.C., Soo L.C.*: Comparison of the profiles of seedborne fungi and the occurrence of aflatoxins in mould damaged beans and soybean. *Microbios.* 1995, 84 (339), 106–116.
60. *Weidenbörner M.*: The mycoflora of soybean seeds in relation to the used plating medium GD18 or MSA. *Nahrung.* 1997, 41 (4), 239–240.
61. *Dhingra O.D., Jham G., Napoleão I.T.*: Ergosterol accumulation and oil quality changes in stored soybean invaded by *Aspergillus ruber* (*A. glaucus* group). *Mycopathologia.* 1998, 143, 85–91.