

INSTYTUT OGRODNICTWA W SKIERNIEWICACH

**ZDROWA ŻYWNOSĆ:
MIKROBIOLOGICZNE BEZPIECZEŃSTWO
W PRODUKCJI ROLNICZEJ**

Magdalena Szczech, Urszula Smolińska, Beata Kowalska,
Ryszard Kosson, Justyna Szwejda-Grzybowska,
Magdalena Tuszyńska

Program Wieloletni pt. „Rozwój zrównoważonych metod produkcji
ogrodniczej w celu zapewnienia wysokiej jakości biologicznej
i odżywczej produktów ogrodnich oraz zachowania
bioróżnorodności środowiska i ochrony jego zasobów”

Skierniewice 2014

Zespół autorów:

dr Magdalena Szczech
dr hab. Urszula Smolińska, prof. IO
dr Beata Kowalska
prof. dr hab. Ryszard Kosson
mgr Justyna Szwejda-Grzybowska
mgr Magdalena Tuszyńska

Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach
Pracownia Mikrobiologii
Pracownia Przetwórstwa i Oceny Jakości Owoców i Warzyw
96-100 Skierniewice, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3

Publikację przygotowano w ramach tematu „Monitorowanie skażeń mikrobiologicznych i mikotoksycznych warzyw produkowanych w gospodarstwach ekologicznych”, w zadaniu nr 4.7 Programu Wieloletniego pt. „Rozwój zrównoważonych metod produkcji ogrodnictwa w celu zapewnienia wysokiej jakości biologicznej i odżywczej produktów ogrodnictwa oraz zachowania bioróżnorodności środowiska i ochrony jego zasobów”, realizowanego w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach i finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

Projekt okładki: Magdalena Szczech

Druk:
Firma Poligraficzno-Reklamowa POL-PRINT
96-100 Skierniewice, ul. Łuczyńskiego 6

Egzemplarz bezpłatny.
Nakład: 200 egzemplarzy

ISBN – 978-83-89800-60-2

Szanowni Państwo,

Opracowanie to kierujemy głównie do rolników oraz doradców z Ośrodków Doradztwa Rolniczego, aby zwrócić uwagę na tak ważny aspekt produkcji rolniczej jak rola mikroorganizmów w uprawie roślin oraz ich wpływ na bezpieczeństwo produktów roślinnych. Mikroorganizmy są niezbędne dla właściwego funkcjonowania środowiska glebowego: biorą udział w tworzeniu warstwy próchnicznej i struktury gleby, są odpowiedzialne za obieg pierwiastków i udostępnienie składników pokarmowych roślinom, metabolity produkowane przez drobnoustroje wpływają na wzrost roślin i ich odporność na czynniki stresowe. Z drugiej zaś strony istnieją grupy mikroorganizmów, które wywołują choroby roślin, inne z kolei powodują psucie produktów roślinnych lub ich skażenia, które mogą doprowadzić do chorób ludzi i zwierząt.

W ostatnich czasach nastąpiły znaczące zmiany stylu życia. Wśród społeczeństwa wzrosła świadomość konieczności ochrony środowiska naturalnego, a także dbałość o zdrowie i jakość życia, co wiąże się ze zmianą diety, w której zalecane jest większe spożycie owoców i warzyw. W uprawie roślin coraz częściej ogranicza się zużycie syntetycznych środków ochrony roślin oraz nawozów mineralnych, których pozostałości, szczególnie w żywności są niepożądane. Zwiększyło się zapotrzebowanie na żywność pochodzącą z upraw ekologicznych, gdzie są stosowane naturalne metody uprawy. Również w integrowanym systemie rolnictwa jest zalecane wprowadzanie nawozów organicznych i innych alternatywnych do chemii metod. W świetle tych zmian należy zwrócić jednak uwagę na stan sanitarny gleby, wody i produktów roślinnych, które mogą ulegać skażeniom wynikającym z niewłaściwego stosowania nawozów naturalnych, co potwierdzają wyniki badań prowadzonych w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach.

W niniejszym opracowaniu pragniemy Państwu przedstawić wyniki tych badań, wskazać potencjalne źródła zanieczyszczeń, a także wyjaśnić jak można zapobiegać ewentualnym skażeniom.

Autorzy

SPIS TREŚCI

Część 1.

Monitorowanie skażeń mikrobiologicznych i mikotoksycznych warzyw produkowanych w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych	5
--	---

Część 2.

Znaczenie mikroorganizmów w uprawie roślin	14
--	----

Część 3.

Możliwości i skutki skażeń mikrobiologicznych produktów roślinnych	29
---	----

Część 4.

Jak zapobiegać skażeniom mikrobiologicznym produktów roślinnych czyli dobre praktyki rolnicze	41
--	----

Część 5.

Mikotoksyny w produktach roślinnych	55
---	----

Część 1

MONITOROWANIE SKAŻEŃ MIKROBIOLOGICZNYCH I MIKOTOKSYCZNYCH WARZYW PRODUKOWANYCH W GOSPODARSTWACH EKOLOGICZNYCH I KONWENCJONALNYCH

Magdalena Szczech, Beata Kowalska, Urszula Smolińska,
Ryszard Kosson, Justyna Szwejda-Grzybowska, Magdalena Tuszyńska

**Wyniki badań wykonanych w ramach zadania nr 4.7
Programu Wieloletniego na lata 2008 – 2014**

Wprowadzenie i cel badań

W ostatnich latach wzrosła świadomość konsumentów w zakresie bezpieczeństwa żywności. Zdrowa dieta powinna składać się z produktów o wysokiej jakości, zawierających składniki korzystne dla właściwego funkcjonowania organizmu, a jednocześnie wolne od wszelkich szkodliwych substancji w postaci pozostałości pestycydów, nadmiaru azotanów czy metali ciężkich. Oprócz unikania skażeń chemicznych ważne jest także zachowanie bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności, a więc zapobieganie zanieczyszczeniom produktów spożywczych mikroorganizmami, które mogą być chorobotwórcze dla człowieka.

W zdrowej diecie jednym z głównych elementów jest spożywanie dużej ilości warzyw, najlepiej na surowo. Świeże warzywa, szczególnie te, które mają bezpośredni kontakt z glebą, mogą być narażone na zanieczyszczenie szkodliwymi drobnoustrojami. Ponadto ograniczenie lub wykluczenie (w uprawach ekologicznych) stosowania środków chemicznych do ochrony roślin, może prowadzić do wzrostu zanieczyszczenia produktów grzybami wytwarzającymi toksyczne związki zwane mikotoksynami.

Celem badań było monitorowanie potencjalnego zagrożenia wystąpienia skażeń mikrobiologicznych oraz mikotoksycznych

warzyw z upraw ekologicznych i konwencjonalnych. Uzyskane wyniki posłużyły do stworzenia kompleksowej oceny stanu sanitarnego warzyw w gospodarstwach na terytorium Polski.

Wyniki badań

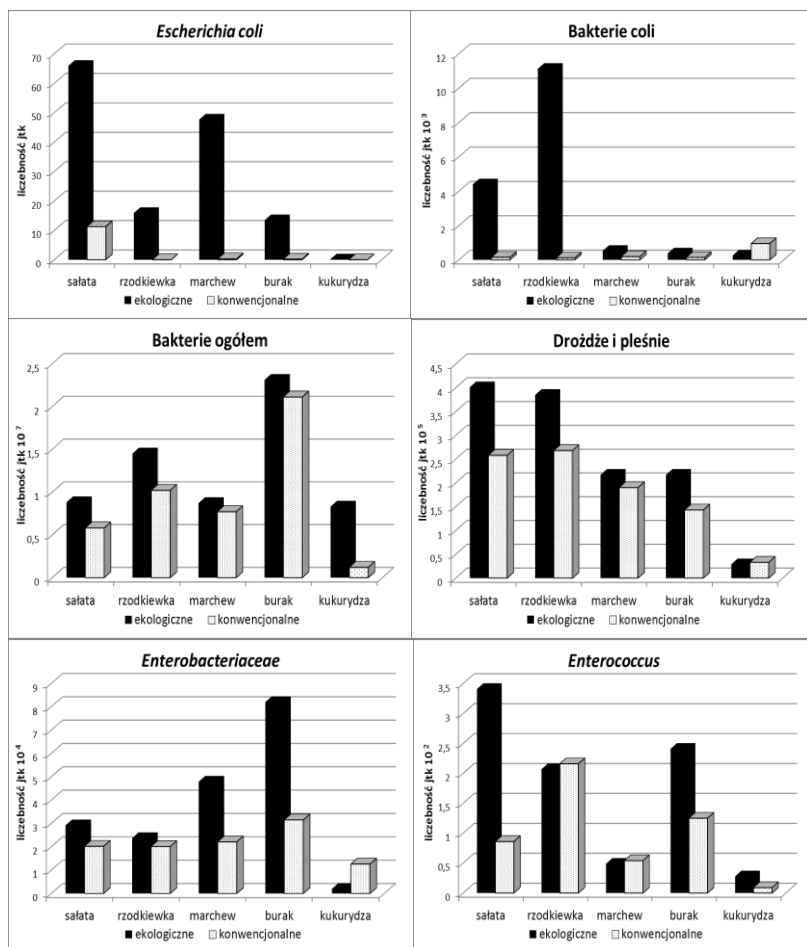
Ocena skażenia mikrobiologicznego warzyw z gospodarstw ekologicznych i konwencjonalnych przez mikroorganizmy potencjalnie chorobotwórcze dla ludzi.

W latach 2010 – 2014 prowadzono ocenę skażeń mikrobiologicznych sałaty, rzodkiewki (w sezonie wiosennym), korzeni marchwi, buraka ćwikłowego oraz kolb kukurydzy (w sezonie jesiennym). Próby warzyw pobierano w certyfikowanych gospodarstwach ekologicznych i gospodarstwach konwencjonalnych położonych na terenie całej Polski. W ciągu pięciu lat badań pozyskano około 800 prób warzyw. Przeprowadzono monitoring skażeń warzyw w 85 gospodarstwach ekologicznych i 97 konwencjonalnych. Materiał roślinny analizowano pod względem zasiedlenia przez mikroorganizmy będące wskaźnikami stanu sanitarnego żywności: drożdże i pleśnie, bakterie ogółem, bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, bakterie z grupy coli, bakterie *Escherichia coli*, *Salmonella* oraz *Listeria monocytogenes*. Do określenia liczebności wymienionych grup mikroorganizmów stosowano metody zgodne z zaleceniami zamieszczonymi w Polskich Normach. Ilość mikroorganizmów wyrażono jako liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) w 1 ml zawiesiny zhomogenizowanego materiału roślinnego.

Analizy mikrobiologiczne materiału roślinnego wykazały głównie różnice w zagęszczeniu bakterii z grupy coli i *Escherichia coli* (rys. 1) na warzywach ekologicznych i konwencjonalnych.

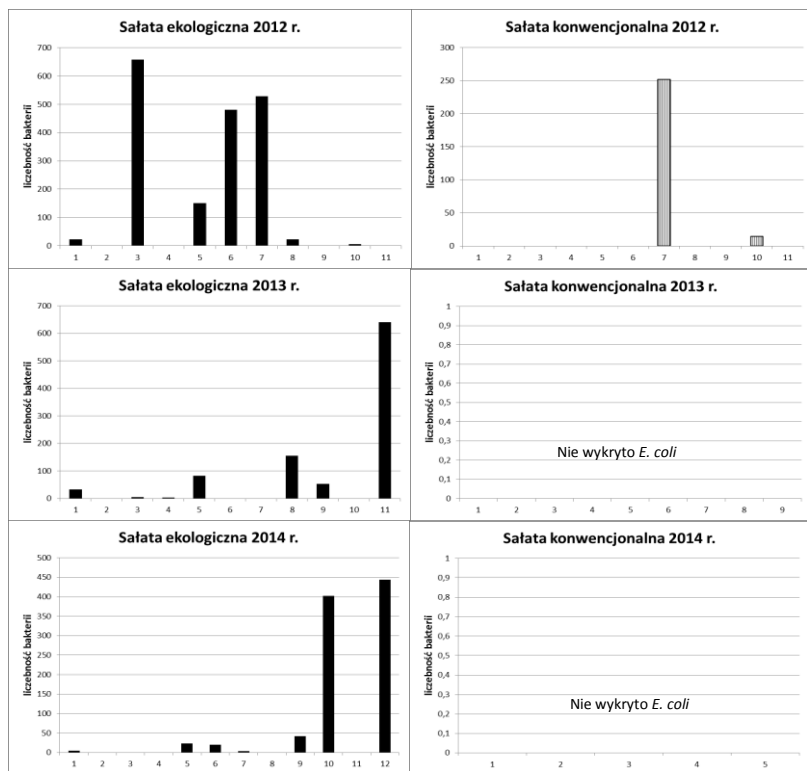
We wszystkich latach badań znacznie więcej bakterii z grupy coli znajdowano na warzywach ekologicznych, szczególnie w uprawach wiosennych sałaty i rzodkiewki. Na warzywach ekologicznych wykrywano również istotnie więcej bakterii kałowych *Escherichia coli*.

Rys.1. Średnia liczebność mikroorganizmów wskaźnikowych w warzywach ekologicznych i konwencjonalnych monitorowanych w latach 2010 – 2014.



Najwięcej tych bakterii było na sałacie, a następnie marchwi, rzodkiewce i burakach ćwikłowych z upraw ekologicznych. *E. coli* wykrywano najczęściej w uprawach sałaty i marchwi, co świadczy o tym, że warzywa te są najbardziej narażone na skażenia tymi bakteriami. Najmniej *E. coli* było w kukurydzy. Natomiast w materiale roślinnym z upraw konwencjonalnych poziom tych bakterii był niski lub nie były one wcale wykrywane.

Rys.2. Liczebność bakterii *Escherichia coli* w próbach sałaty z gospodarstw ekologicznych i konwencjonalnych, pobieranych w latach 2012 – 2014.



Zaobserwowano również, że częstotliwość występowania *E. coli* była znacznie wyższa w gospodarstwach ekologicznych niż w konwencjonalnych.

Dla przykładu na rysunku 2 przedstawiono liczebność *E. coli* wykrywanej w próbach sałaty w poszczególnych gospodarstwach badanych w latach 2012- 2014. Widać wyraźnie, że bakterie te były wykrywane w wielu gospodarstwach ekologicznych, choć nie we wszystkich, w konwencjonalnych zaś tylko w kilku. Średnio *E. coli*

wykrywano w ok. 40% gospodarstw ekologicznych i tylko w ok. 7% gospodarstw konwencjonalnych (rys. 3).

Rys.3. Obecność *E. coli* (wyrażona w % monitorowanych gospodarstw) w uprawach ekologicznych i konwencjonalnych, w latach 2010 - 2014.



Dla pozostałych grup mikroorganizmów nie stwierdzono wyraźnych różnic pomiędzy obydwoma systemami uprawy. W żadnej z badanych prób warzyw nie wykryto obecności bakterii chorobotwórczych *Salmonella* i *L. monocytogenes*.

Ocena skażenia warzyw korzeniowych i kukurydzy przez wybrane mikotoksyny.

Analizowano zawartości mikotoksyn w świeżych próbach warzyw, bezpośrednio po zbiorze, oraz w korzeniach marchwi i buraków po ich półrocznym przechowywaniu w temperaturze 4°C. Zawartości aflatoksyn ogółem i ochratoksyny A i zearalenonu oznaczano za pomocą metody immunoenzymatycznej ELISA.

Poziom mikotoksyn w świeżych warzywach był niski (tab. 1). Najwięcej ich wykryto w kukurydzy, gdzie było istotnie więcej zearalenonu. Generalnie jednak nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy dwoma systemami uprawy.

Tab.1. Średnia zawartość mikotoksyn ($\mu\text{g/kg}$ świeżej masy) w świeżym materiale roślinnym.

Rodzaj uprawy	aflatoksyny	ochratoksyna A	zearalenon
marchew			
ekologiczna	1,34	0,42	0,70
konwencjonalna	0,57	0,71	0,54
burak			
ekologiczna	0,69	0,82	0,38
konwencjonalna	1,02	0,81	0,43
kukurydza			
ekologiczna	2,02	0,51	1,49
konwencjonalna	2,01	0,75	0,25

Po przechowaniu do analizy wybierano korzenie marchwi i buraków losowo, ale bez wyraźnych objawów wzrostu grzybów strzępkowych na ich powierzchni. Pomimo to, stwierdzono kilkukrotny wzrost zawartości aflatoksyn oraz ochratoksyny A w porównaniu z wynikami badań korzeni bezpośrednio po zbiorze (tab. 2).

Wiele mikotoksyn zawierały buraki niż marchew. U obu gatunków najwyższą była akumulacja aflatoksyn, jednak ogólnie stężenia nie przekraczały dopuszczalnej dla warzyw zawartości określonej na $4,0 - 15,0 \mu\text{g/kg}$ (rozporządzenie Komisji WE nr 1881/2006 z 19 grudnia 2006 r.). Z kolei dopuszczalna zawartość ochratoksyny A w warzywach wynosi $0,5 - 10 \mu\text{g/kg}$, a więc średnie ilości w badanych próbach nieznacznie przekraczały dolne granice normy. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy uprawami ekologicznymi i konwencjonalnymi.

Tab.2. Średnia zawartość mikotoksyn ($\mu\text{g/kg}$ świeżej masy) po 6 miesiącach przechowywania.

Rodzaj uprawy	aflatoksyny ogółem	ochratoksyna A	zearalenon
marchew			
ekologiczna	2,14	1,61	0,15
konwencjonalna	2,23	1,32	0,13
burak			
ekologiczna	2,90	2,21	0,28
konwencjonalna	3,53	1,79	0,24

Podsumowanie

Na podstawie szczegółowych badań prowadzonych w latach 2010 – 2014 dokonano oceny stanu sanitarnego warzyw produkowanych w Polsce w systemie ekologicznym i konwencjonalnym.

Stwierdzono, że w uprawach ekologicznych istnieje potencjalne zagrożenie skażenia warzyw bakteriami fekalnymi *E. coli*.

Najbardziej narażone na skażenia są warzywa z upraw wiosennych, które są spożywane na surowo jak sałata, ale także i inne warzywa mające bezpośredni kontakt z glebą np. marchew. Nie we wszystkich próbach z gospodarstw ekologicznych wykryto bakterie *E. coli*, ale w niektórych z nich poziom skażenia przekraczał normę ustaloną dla produktów roślinnych (100 jtk/ g). Bakterie *E. coli* wykryto w ok. 40% gospodarstw ekologicznych, podczas gdy w uprawach konwencjonalnych tylko w ok. 7%.

W żadnej z badanych prób, zarówno z gospodarstw ekologicznych jak i konwencjonalnych, nie wykryto chorobotwórczych bakterii *Salmonella* i *L. monocytogenes*.

Badania zawartości mikotoksyn wykazały, że w świeżych warzywach, bezpośrednio po zbiorze, zawartość tych substancji jest niska. Natomiast po sześciomiesięcznym przechowywaniu korzeni marchwi i buraków koncentracje aflatoksyn i ochratoksyny A wzrosły kilkukrotnie, pomimo że materiał roślinny przechowywał się dobrze.

Nie stwierdzono różnic w koncentracji mikotoksyn pomiędzy uprawami ekologicznymi i konwencjonalnymi.

Jednak kumulacja mikotoksyn w warzywach poddawanych długotrwałemu przechowywaniu może istotnie wpływać na ich jakość, szczególnie jeśli są składowane w niewłaściwych warunkach.

W odwiedzanych gospodarstwach prowadzono szczegółowe ankiety, w których zawarto informacje m.in. na temat stosowanego w uprawach nawożenia, zmianowania oraz ochrony roślin.

Analiza liczebności bakterii *E. coli* w odniesieniu do nawożenia pozwoliła stwierdzić, że skażenia bakteriami fekalnymi w uprawach ekologicznych są związane z niewłaściwym stosowaniem nawozów naturalnych, m.in.: używaniem oborników niedokładnie przekompostowanych, kompostów z dodatkami odchodów zwierzęcych, dokarmianiem roślin tzw. „gnojówkami” lub roztworami odchodów zwierzęcych.

Takie sytuacje bardzo rzadko zdarzają się w gospodarstwach konwencjonalnych, gdzie najczęściej stosowane jest nawożenie mineralne. Nie jest jednak wykluczone, że problem ten może zaistnieć w produkcji integrowanej, w przypadku zwiększenia udziału nawożenia organicznego, szczególnie z użyciem nawozów odzwierzęcych.

Publikacje wynikające z realizacji zadania:

- 1) Szczech M., Kowalska B., 2010. Mikroflora warzyw ekologicznych. Nowości Warzywnicze, 51: 65 – 72.
- 2) Szwejda-Grzybowska J., Kosson R., Tuszyńska M., Szczech M., 2011. Mikotoksyny w warzywach ekologicznych. Materiały z Konferencji „Zdrowe rośliny – zdrowi ludzie”, Bydgoszcz: 396 – 398.
- 3) Szwejda-Grzybowska J., Tuszyńska M., Kosson R., Szczech M., 2012. Zawartość wybranych mikotoksyn w warzywach ekologicznych i konwencjonalnych. Materiały z Konferencji „Grzyby mikroskopowe i ich metabolity”, Poznań: 5 – 6.

- 4) Szczech M., Kowalska B., Smolińska U., 2013. Stan sanitarny warzyw w uprawach ekologicznych i konwencjonalnych. Materiały z 47 Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej „Mikroorganizmy – roślina – środowisko w warunkach zmieniającego się klimatu”, Puławy: 56.
- 5) Szczech M., Kowalska B., Smolińska U., 2014. Mikrobiologiczne skażenie warzyw w różnych systemach uprawy. Materiały konferencyjne z Targów Sadownictwa i Warzywnictwa, Warszawa: 20-21
- 6) Szczech M., Kowalska B., Smolińska U., 2014. Stan sanitarny warzyw w polskich uprawach ekologicznych. Materiały z 48 Międzynarodowego Sympozjum „Mikrobiologia i Ochrona Środowiska” Warszawa: 108

Część 2

ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW W UPRAWIE ROŚLIN

Beata Kowalska

Wprowadzenie

Mikroorganizmy stanowią istotny składnik każdego ekosystemu, który często jest niedoceniany. Odgrywają ogromną rolę w naszym życiu, poczynając od obiegu materii w przyrodzie, udziału w produkcji żywności oraz procesach wykorzystywanych w różnych gałęziach przemysłu, oczyszczaniu środowiska – bioremediacji, po wywoływanie chorób ludzi, zwierząt i roślin (tab. 1).

Mikroorganizmy występują niemal we wszystkich środowiskach naturalnych: w glebie, wodzie i powietrzu. Ich nosicielami są ludzie i zwierzęta, występują też na i w roślinach. Żyją w bezpośrednim otoczeniu każdego człowieka, jak również w najbardziej niedostępnych i najbardziej odległych miejscach (głębie oceanów, wody arktyczne, pustynie).

Dla rolnictwa najważniejsze są te, które znajdują się w glebie i w wodzie, ale także te, które zasiedlają rośliny, występują w produktach spożywczych albo mogą być chorobotwórcze dla ludzi i zwierząt.

Gleba należy do najważniejszych i najbardziej skomplikowanych środowisk naturalnych, w którym rozwijają się drobnoustroje. Rozmieszczenie mikroorganizmów w glebie pokrywa się z rozmieszczeniem materii organicznej. Najwięcej drobnoustrojów występuje w powierzchniowej, próchniczej 5-20-centymetrowej warstwie gleby, w warunkach tlenowych. Duży wpływ na egzystowanie drobnoustrojów wywiera struktura gleby. Od niej zależy właściwe zaopatrzenie w wodę oraz wymiana gazowa. Glebę zasiedla ogromna liczba drobnoustrojów, które stanowią 0,2% jej ciężaru i zajmują 1,33% jej objętości. Dla przykładu w warstwie ornej gleby na powierzchni 1 ha może znajdować się 3-15 t bakterii, a 15-cm

warstwa na powierzchni 1 ha zawiera 1,5-7,2 t biomasy mikroorganizmów: bakterii, grzybów, glonów, pierwotniaków i sinic.

Tab. 1. Przykłady działania mikroorganizmów w środowisku rolniczym.

Pozytywna rola	Negatywna rola
• Udział w naturalnym obiegu pierwiastków (węgla, azotu, siarki i żelaza i in.) niezbędnych dla rozwoju żywych organizmów • Rozkład i mineralizacja materii organicznej, przekształcanie w związki humusowe, organiczne i nieorganiczne, stanowiące źródło pokarmu dla roślin i poprawiające żyzność gleby • Utrzymanie równowagi pomiędzy różnymi formami azotu w jego obiegu poprzez procesy takie jak: nityfikacja, denityfikacja, wiązanie azotu atmosferycznego, amonifikacja • Bioremediacja w środowisku, która polega na rozkładzie szkodliwych substancji • Udział w procesach przetwarzania żywności lub wytwarzania pasz	• Wywoływanie chorób roślin uprawnych, czego skutkiem jest obniżanie plonu i duże straty ekonomiczne • Skażenie surowców roślinnych oraz zwierzęcych, w rezultacie ich psucie lub wywoływanie chorób groźnych dla ludzi i zwierząt • Konkutowanie z roślinami uprawnymi o składniki pokarmowe w warunkach ich niedoboru

W przypadku roślin największe ilości mikroorganizmów można znaleźć na korzeniach, gdzie mają optymalne warunki rozwoju, zapewniane przez wydzieliny korzeniowe bogate w różnorodne składniki pokarmowe. Nieco mniejsze zagęszczenie drobnoustrojów występuje na częściach nadziemnych roślin, gdzie są narażone m.in. na wysychanie, duże wahania temperatury, promieniowanie UV lub oddziaływanie toksycznych dla nich związków chemicznych. Mikroorganizmy zasiedlają również wnętrze roślin, choć jest ich tam znacznie mniej niż na korzeniach czy liściach.

Woda jest naturalnym środowiskiem mikroorganizmów. Zapewnia warunki korzystne dla ich wzrostu i rozmnażania.

Głównymi czynnikami określającymi możliwość rozwoju mikroorganizmów w wodzie są: zawartość pokarmu i tlenu, temperatura, pH, obecność światła i promieniowanie UV. Drobnoustroje występują i rozwijają się w całym zakresie temperatury, w którym woda występuje w stanie ciekłym, od temperatur ujemnych wód zasolonych (psychrofile) do wody wrzącej w temperaturze powyżej 100°C (termofile). Mikroorganizmy zasiedlające wodę mają dla rolnictwa istotne znaczenie ze względu na to, iż niektóre z nich mogą być chorobotwórcze dla ludzi i zwierząt. Mogą one przedostać się do źródeł wody wykorzystywanej później do podlewania, opryskiwania lub płukania roślin, wraz z fekaliami lub ściekami i mogą stanowić istotne zagrożenie stanu sanitarnego produktów pochodzących z upraw. Temat ten został szerzej opisany w rozdziałach 3 i 4.

Rola mikroorganizmów glebowych

Większość mikroorganizmów zasiedlających glebę pełni pozytywną rolę w tym środowisku.
--

Biorąc udział w rozkładzie materii organicznej, uwalniają do otoczenia pierwiastki biogenne, takie jak węgiel, azot, fosfor, siarka i in. Uruchamiają nieprzyswajalne formy pierwiastków, ale mają też zdolność do wiązania pewnych pierwiastków z atmosfery, jak to się dzieje w przypadku azotu. Dzięki temu udostępniają wiele składników odżywczych dla roślin oraz innych organizmów zasiedlających glebę.

Mikroorganizmy odgrywają ważną rolę strukturotwórczą w glebie i mają ogromny udział w tworzeniu warstwy próchnicznej. Próchnica jest bezpostaciową substancją organiczną powstającą w glebie w procesach biochemicznych. Zwykle próchnicy w glebie jest niedużo, jej ilość waha się od setnych procenta do kilku procent, ale jej obecność jest podstawowym warunkiem wysokiej żyzności gleby, czyli zdolności do zaspokajania pokarmowych i środowiskowych potrzeb roślin. Próchnica wpływa na strukturę gleby oraz wynikające z niej stosunki wodno-powietrzne. Rozluźnia gleby zbite i poprawia

ich strukturę, a jednocześnie jest naturalnym lepiszczem w glebach piaszczystych i zbyt luźnych. Polepsza właściwości cieplne gleby.

Mikroorganizmy glebowe mogą rozkładać substancje skażające środowisko jak np.: detergenty, pestycydy, substancje ropopochodne. Mogą też wiązać toksyczne substancje np. metale ciężkie. Biorą więc udział w oczyszczaniu środowiska glebowego ze szkodliwych związków. Z kolei te drobnoustroje, które zasiedlają system korzeniowy roślin i glebę pozakorzeniową mogą chronić rośliny przed szkodliwymi organizmami i czynnikami środowiskowymi, ale są też takie, które szkodzą roślinom wywołując choroby lub konkurując z nimi o składniki odżywcze.

Różnorodność i bogactwo gatunków mikroorganizmów, wielkość ich populacji oraz aktywność ma istotne znaczenie w utrzymaniu żyzności gleby.

Na ilość oraz bioróżnorodność mikroorganizmów glebowych mają duży wpływ wszelkie zabiegi agrotechniczne.

Zabiegi, takie jak orka czy bronowanie, poprawiają stosunki powietrzno-wodne w glebie. Ponadto dochodzi do rozdrobnienia i wprowadzenia resztek roślinnych oraz nawozów na większe głębokości, co przyspiesza procesy rozkładu mikrobiologicznego. Stymulująco na rozwój mikroorganizmów glebowych oddziałuje przede wszystkim stosowanie nawożenia organicznego. Zarówno nawozy naturalne (np. oborniki, gnojowica), komposty jak i nawozy zielone czy resztki poźniwne są źródłem substancji pokarmowych, które silnie pobudzają aktywność mikroorganizmów i powodują gwałtowny wzrost ich liczebności w glebie. Systematyczne stosowanie nawożenia organicznego wpływa korzystnie na tworzenie warstwy próchnicznej gleby, poprawę jej struktury i stosunków powietrzno-wodnych oraz jej zasobność w składniki pokarmowe dla roślin.

Nawozy organiczne pobudzają rozwój mikroorganizmów korzystnie działających na wzrost roślin.

Mogą to być mikroorganizmy obecne już w glebie, które w sprzyjających warunkach, po dodaniu nawozów, mogą intensywnie się rozwijać lub mogą to być drobnoustroje wprowadzone do gleby

wraz z zastosowanym nawozem organicznym. Wiele takich mikroorganizmów znajduje się w kompostach. Z drugiej jednak strony dodatek świeżej, nie przekompostowanej materii organicznej do gleby może także stymulować rozwój mikroorganizmów patogenicznych dla roślin, szczególnie grzybów atakujących system korzeniowy. Patogeny mogą być wprowadzone do gleby również wraz z resztkami posprzętnymi. Należy też pamiętać, że w przypadku nawozów naturalnych lub kompostów, które zawierają odchody zwierzęce, możemy wraz z nimi wprowadzić do gleby organizmy chorobotwórcze dla ludzi, jeśli stan sanitarny tych nawozów nie będzie właściwy. Problem ten jest szerzej opisany w częściach 3 i 4 tego opracowania.

Uprawy roślin w monokulturze mogą prowadzić do zubożenia bioróżnorodności i zdominowania środowiska przez pojedyncze gatunki mikroorganizmów, często przez patogeny roślin. Z kolei stosowanie zbyt małych dawek nawozów mineralnych prowadzi do pojawienia się zjawiska konkurencji o składniki pokarmowe między roślinami i mikroorganizmami. Podobnie w przypadku nawożenia organicznego niewłaściwe proporcje węgla i azotu wprowadzonego do gleby z materiałem organicznym mogą zaburzyć procesy mikrobiologiczne i wywołać konkurencję o składniki.

Syntetyczne środki ochrony roślin mogą mieć niekorzystny wpływ na mikroorganizmy glebowe, zubożając ich skład jakościowy. Zabiegi odkażające glebę niszczą patogeny, ale trzeba pamiętać, że w tym samym czasie giną też mikroorganizmy decydujące o żyzności gleby.

Mikroorganizmy zasiedlające rośliny

Rola mikroorganizmów zasiedlających rośliny jest ogromna: są nieodzowne dla ich prawidłowego wzrostu, ale mogą też doprowadzić do zamierania roślin i dotkliwych strat w plonach. Nawet po zbiorach mikroorganizmy mają znaczący wpływ na jakość produktów roślinnych, biorąc udział w procesach przetwarzania żywności lub wytwarzania pasz (np. kiszenie, fermentacje alkoholowe). Z drugiej strony ich nadmiar wywołuje psucie produktów, a niektóre z nich powodują skażenia żywności doprowadzające do chorób ludzi lub wydzielają toksyczne

substancje, które w wyniku spożywania zanieczyszczonych produktów kumulują się w organizmie ludzkim (np. mikotoksyny).

Mikroorganizmy intensywnie zasiedlają powierzchnię roślin: korzenie, liście, pędy, owoce, kwiaty, ale można też je znaleźć w ich wnętrzu.

Na powierzchni owoców i warzyw występują mikroorganizmy korzystne dla roślin jak i konsumenta, m.in. bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. Są one wykorzystywane w produkcji fermentowanej żywności (np. kiszona kapusta, kiszone ogórki) i pasz. Nadają one nie tylko wygląd i smak wielu produktom fermentacji, ale także hamują wzrost bakterii, które tę żywność psują.

Na powierzchni roślin znajduje się również wiele mikroorganizmów, pochodzących z gleby, powietrza, wody, od owadów, gryzoni i innych organizmów żywych, które zanieczyszczają surowce roślinne lub powodują choroby roślin. Im bliżej gleby znajduje się część rośliny, tym większy jest stopień jej zanieczyszczenia. Najsilniej zanieczyszczone są warzywa korzeniowe, w których stwierdza się od 10^5 do 10^8 komórek bakterii na gram. Mikroorganizmy glebowe zanieczyszczające te surowce, należą głównie do bakterii z rodzajów *Bacillus* i *Clostridium*, promieniowców oraz drożdży i pleśni. Przy intensywnym nawożeniu naturalnym oraz nawadnianiu zanieczyszczoną wodą na powierzchni warzyw mogą również znaleźć się bakterie pochodzenia jelitowego oraz bakterie chorobotwórcze dla człowieka opisane w części 3. Najmniejsze zanieczyszczenia mikrobiologiczne występują na owocach rosnących wysoko na drzewach, gdzie drobnoustroje przenoszone są głównie z ruchami powietrza i osiadają z kurzem oraz przez owady. Na owocach, oprócz drożdży z rodzajów: *Saccharomyces*, *Candida*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Cryptococcus* oraz pleśni: *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, występują bakterie z rodzajów *Micrococcus* i *Bacillus* oraz pałeczki grupy coli.

W rozwoju roślin bardzo ważną rolę odgrywają mikroorganizmy zasiedlające ich strefę korzeniową – ryzosferę.

Ryzosfera obejmuje powierzchnię korzenia i przylegającą do niej glebę. Jej grubość waha się od kilku do kilkunastu milimetrów i zależy głównie od gatunku i stadium rozwojowego rośliny, od

rodzaju gleby i jej warunków fizyko-chemicznych oraz stosowanego nawożenia. Liczebność mikroorganizmów w ryzosferze jest od kilku do kilkudziesięciu razy większa niż w strefie pozakorzeniowej, głównie ze względu na obecność wydzielin korzeniowych, które stanowią bogate źródło związków pokarmowych. Mikroorganizmy ryzosferowe mogą oddziaływać na roślinę w sposób pozytywny, ale mogą mieć też wpływ negatywny.

Pozytywne działanie mikroorganizmów ryzosferowych polega m.in. na:

- mineralizacji materii organicznej, zwiększaniu intensywności pobierania i przemieszczania składników mineralnych, a także udostępnianiu roślinom pierwiastków biogennych, głównie azotu i fosforu;
- produkcji substancji wzrostowych, witamin, antybiotyków i innych związków stymulujących i wspomagających wzrost roślin;
- mogą uodparniać rośliny lub je chronić przed infekcjami powodowanymi przez mikroorganizmy patogeniczne.

Negatywne działanie mikroorganizmów ryzosferowych polega m.in. na:

- wywoływaniu chorób roślin;
- produkcji toksycznych substancji hamujących wzrost roślin lub powodujących ich deformacje;
- konkurencji z roślinami o deficytowe składniki pokarmowe.

Mikroorganizmy w uprawie roślin

W rolnictwie coraz więcej uwagi poświęca się drobnoustrojom, które można wykorzystać dla poprawy jakości i zdrowotności uzyskiwanych plonów. Jako grupy takich mikroorganizmów można wymienić bakterie ryzosferowe wspomagające wzrost roślin (z ang. PGPR – *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), bakterie symbiotyczne, mające zdolność do wiązania azotu cząsteczkowego, grzyby mikoryzowe oraz grzyby i bakterie stosowane w formie biopreparatów w celu ochrony roślin przed patogenami.

Bakterie PGPR – stymulują wzrost roślin, wzбудzają odporność, chronią przed patogenami.

Bakterie zwane PGPR najczęściej należą do rodzajów *Pseudomonas* i *Bacillus*. Bakterie te, bytujące w strefie korzeniowej roślin, tzw. ryzobakterie, mogą stymulować wzrost roślin w dwojaki sposób: bezpośredni i pośredni. Bezpośrednia stymulacja polega na dostarczaniu roślinom składników mineralnych, syntezie fitohormonów oddziałujących na wzrost oraz obniżaniu poziomu etylenu niekorzystnie wpływającego na ukorzenianie. Bardzo ważnym sposobem oddziaływania tych bakterii na rośliny jest także indukcja odporności wobec czynników chorobotwórczych. Bakterie mogą również pośrednio chronić rośliny przed skutkami działania patogenów, np. konkurując o składniki pokarmowe z patogenami.

Produkcja fitohormonów przez ryzobakterie jest często obserwowanym mechanizmem ich działania na rośliny. Na przykład bakteryjne fitohormony z grupy giberelin stymulują przerywanie spoczynku, kiełkowanie nasion, wzrost łodygi na długość, kwitnienie oraz zwiększają żywotność pyłku i przyspieszają rozwój owoców. Z kolei auksyny pozytywnie wpływają na ukorzenianie roślin. Niektóre bakterie posiadają również zdolność do produkcji deaminazy ACC, co zwiększa odporność roślin na wydzielanie etylenu hamującego ich wzrost, np. w warunkach stresowych takich jak: zalanie, wysokie zasolenie, susza czy infekcja wywołana przez patogeny.

Stymulacja wzrostu korzeni przez bakterie PGPR, związana często z produkcją fitohormonów, skutkuje zwiększeniem powierzchni kontaktowej rośliny z glebą. Prowadzi to do bardziej wzmoczonego pobierania wody i składników pokarmowych przez lepiej rozwinięte korzenie. Ryzobakterie, dzięki produkcji słabych kwasów organicznych, powodują rozpuszczanie związków mineralnych, udostępniając roślinom składniki pokarmowe jak fosfor czy potas. Innym składnikiem glebowym niezbędnym dla rozwoju roślin jest żelazo. W warunkach niedoboru tego pierwiastka bakterie wytwarzają związki zwane sideroforami wiążące żelazo z ryzosfery, co zabezpiecza pulę tego pierwiastka niezbędną dla wzrostu, zarówno bakterii jak i roślin. Wśród bakterii PGPR znajdują się takie, które mają zdolność do wiązania azotu atmosferycznego, z którego korzystają również rośliny.

Bakterie PGPR mają zdolność do wywoływania indukowanej odporności systemicznej rośliny (ISR).

Aktywacja mechanizmu obronnego ISR uruchamiana jest przez niepatogeniczne mikroorganizmy, które pobudzają syntezę peroksydaz oraz enzymów odpowiedzialnych za syntezę związków zwanych fitoaleksynami, białkami PR oraz endochitynazami. Substancjami inicjującymi reakcje obronne roślin mogą być lipopolisacharydy (LPS) - składnik budulcowy błon komórkowych bakterii, siderofory – związki chelatujące jony żelaza, antybiotyki, związki lotne i inne substancje produkowane przez bakterie. Indukowana przez bakterie odporność w roślinach objawia się m.in. przez wzmacnianie ścian komórek epidermy i pojawianie się barier zawierających kalozę, ligniny i fenole - związki biorące udział we wzmacnianiu struktury rośliny. Zmiany te utrudniają nawiązanie kontaktu patogena z rośliną oraz umożliwiają uruchomienie w roślinie innych mechanizmów obronnych biochemicznych i fizjologicznych, które uodparniają ją przeciwko bardzo szerokiemu spektrum czynników chorobowych, obejmujących grzyby, bakterie i wirusy.

Inne mechanizmy obronnego działania bakterii PGPR: konkurencja o niszę ekologiczną i składniki pokarmowe, produkcja antybiotyków i enzymów litycznych oraz innych metabolitów ograniczających rozwój patogenów roślin.

Zasiedlając intensywnie korzenie oraz konkurując o składniki pokarmowe, bakterie PGPR tworzą silną barierę chroniącą rośliny przed patogenami. Kolonizacja ryzosfery przez te bakterie jest między innymi możliwa dzięki produkcji takich substancji jak antybiotyki, enzymy lityczne czy enzymy powodujące rozkład czynników odpowiedzialnych za zdolność patogenów do infekcji roślin. Bakterie PGPR są zdolne do produkcji bardzo licznych związków antygrzybowych i antibakteryjnych zwanych antybiotykami. Niektóre bakterie mogą produkować kilka antybiotyków. Jednak ich synteza przez mikroorganizmy jest wysoce zależna od dostępności składników odżywczych, pH, temperatury lub innych bodźców środowiskowych. Dlatego bakterie, które mają

potencjalne zdolności do produkcji tych substancji nie zawsze mogą je produkować w danym środowisku lub w niesprzyjających dla nich warunkach. Dzięki produkcji enzymów litycznych bakterie mogą uszkadzać komórki grzybów chorobotwórczych lub rozkładać związki wydzielane przez patogeny, które biorą udział w infekcji roślin.

Opisane powyżej właściwości bakterii ryzosferowych wskazują, że zastosowanie mikroorganizmów w uprawie roślin może stanowić pewne uzupełnienie dla nawożenia mineralnego oraz dla syntetycznych pestycydów używanych do ograniczania chorób infekcyjnych.

Bakterie mają zdolność do wiązania azotu.

Bardzo istotnymi dla rozwoju roślin i z punktu widzenia ich zastosowania w rolnictwie są bakterie mające zdolność do wiązania azotu cząsteczkowego, tworzące związki symbiotyczne z roślinami, głównie motylkowatymi. Biologiczna redukcja azotu cząsteczkowego do jonów amonowych przeprowadzana jest przez zróżnicowane pod względem systematycznym bakterie, określane terminem „diazotrofy”. Proces ten stanowi niezwykle istotne ogniwo w cyklu obiegu azotu w przyrodzie. Tylko niewielki ułamek nieorganicznych związków azotu znajdujących się w warstwie gleby jest dostępny dla organizmów żywych. Natomiast aktywność diazotrofów dostarcza znacznie więcej związanego azotu atmosferycznego ($2,4 \times 10^8$ t rocznie) niż całkowita produkcja przemysłu nawozów sztucznych ($3,6 \times 10^7$ t rocznie) i redukcja abiotyczna (8×10^7 t rocznie). Można przyjąć, że biologiczne wiązanie azotu jest głównym procesem utrzymującym równowagę pomiędzy ilością azotu cząsteczkowego a ilością jonów azotanowych i amonowych dostępnych dla roślin.

Związek bakterii zdolnych do wiązania azotu cząsteczkowego z roślinami wyższymi przybiera często formę symbiozy.

Z powodu wysokiej wydajności symbiotycznego wiązania azotu na proces ten zwrócono uwagę już dawno temu i wykorzystywano w rolnictwie stosując płodozmian. Symbioza diazotrofów z roślinami zachodzi zazwyczaj w obrębie specjalnych organów roślinnych – brodawek korzeniowych, rzadziej brodawek łodygowych. Bakterie symbiotyczne to głównie glebowe bakterie gramujemne należące do

rodzajów: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* i *Azorhizobium*. Często określane są ogólnym terminem „rizobiów”. Wchodzą one w interakcje z licznymi gatunkami roślin z rodziny *Fabaceae* (motylkowate). Bakterie wnikają z gleby do młodych korzeni.

Należy zwrócić uwagę, że wiązanie następuje jedynie między zgodnymi partnerami – nie każdy gatunek bakterii symbiotycznej może wiązać się z dowolną rośliną.

W wyniku rozrostu komórek warstwy kory pierwotnej korzenia, w miejscu kontaktu z bakteriami, powstają brodawki, gdzie rozwijają się rizobia przekształcone w bakteroidy, czyli formy wiążące azot, z którego mogą korzystać rośliny. Aby proces wiązania azotu przebiegał efektywnie, roślina zapewnia bakteroidom odpowiednie warunki tj. niskie stężenie tlenu optymalne dla aktywności enzymu nitrogenazy oraz stały dopływ asymilatów, czyli składników pokarmowych. Bakteroidy wiążą azot głównie dla roślin rosnących na glebach ubogich w ten składnik. Przy czym prawie nie pobierają związanego azotu, który przekształcony do amoniaku jest przekazywany roślinie-gospodarzowi. W komórce roślinnej jon amonowy jest wbudowywany do aminokwasów i transportowany do innych części rośliny. Ilości związanego azotu zależą od właściwości genetycznych rośliny oraz bakterii żyjącej z nią w symbiozie, a także od czynników środowiskowych i zabiegów agrotechnicznych.

Związany symbiotycznie azot ma znaczenie nie tylko dla samych roślin motylkowych, ale także dla roślin następczych.

Oprócz wzbogacania gleby w azot, uprawa roślin motylkowych żyjących w symbiozie z rizobiami ma również pozytywny wpływ na strukturę gleby i jej żyzność, a ich plonotwórcze działanie w uprawach prowadzonych w zmianowaniu znane jest od dawna. Pomimo to udział tych roślin w strukturze zasiewów w Polsce jest od wielu lat niewielki. Dlatego w dążeniu do zachowania żyzności i zdrowotności gleb, powinno się zwiększać areał ich uprawy.

Zdolność do wiązania azotu posiadają również bakterie wolno żyjące w glebie.

Jest to liczna grupa bakterii zróżnicowana pod względem fizjologicznym, zasiedlająca powszechnie gleby w różnych strefach klimatycznych. Bakterie te należą głównie do rodzaju *Azotobacter*. Oceniono, że efektywność wiązania azotu atmosferycznego przez te bakterie i inne niesymbiotyczne diazotrofy nie jest duża, m.in. dlatego, że bakterie przeprowadzają ten proces tylko w czasie wzrostu na potrzeby metabolizmu komórek, a więc nie wydzielają związanego N do środowiska. Tak związany azot wzbogaca glebę dopiero po obumarciu komórek bakteryjnych. Jednak nawet te niewielkie ilości azotu, w porównaniu do koncentracji tego składnika wprowadzanego z nawozami mineralnymi, mogą mieć duże znaczenie np. w uprawach ekologicznych lub integrowanych.

Bakterie te są wrażliwe na niski odczyn, dlatego najchętniej zasiedlają gleby żyzne o dużej zawartości części spławialnych i pH zbliżonym do obojętnego. W związku z tym wapnowanie gleb kwaśnych powinno być podstawowym zabiegiem zapewniającym prawidłowe funkcjonowanie gleby, podnoszące jej żyzność dzięki stymulowaniu aktywności mikrobiologicznej.

Grzyby mikoryzowe to kolejny symbiotyczny układ pomiędzy roślinami naczyniowymi a grzybami zasiedlającymi korzenie tych roślin spotykany w naturze.

Jest to zjawisko powszechne, występujące u większości roślin dwuliściennych. Ta forma współżycia grzyba i rośliny jest korzystna dla obu partnerów. Sieć grzybni oplatająca korzenie lub w nie wnikaćca zwiększa ich „powierzchnię chłonną”. Jednocześnie grzyby mikoryzowe modyfikują wzrost, morfologię i liczbę korzeni, czyniąc system korzeniowy bardziej wydajnym w pobieraniu wody i związków mineralnych z gleby. Stwierdzono, że grzyby mikoryzowe dostarczają i umożliwiają pobieranie niedostępnych dla roślin form fosforu, azotu i mikroelementów. Wpływają też na wzrost odporności roślin na suszę i szkodliwe działanie zanieczyszczeń gleby np. toksycznymi związkami. Grzyby mikoryzowe działają również na rozwój części nadziemnych roślin, np. dzięki pobudzeniu aktywności fitohormonów i wzrost ilości pobieranego dwutlenku węgla. Przez zwiększoną powierzchnię liści wzrasta tempo fotosyntezy. Grzybnia

mikoryzowa na korzeniach stanowi barierę przeciwko infekcji roślin przez patogeniczne grzyby odglebowe z rodzaju *Fusarium*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* oraz przed szkodliwymi nicieniami i larwami owadów. Z kolei grzyby w tym układzie są zaopatrywane w składniki pokarmowe, pochodzące z syntetyzowanych przez rośliny związków organicznych.

Grzyby mikoryzowe mają praktyczne zastosowanie w uprawie roślin.

Mikoryza jest obecnie wprowadzana do upraw wielu gatunków roślin. W handlu jest już dostępnych wiele preparatów z grzybami mikoryzowymi z przeznaczeniem dla określonych gatunków roślin uprawnych i ozdobnych. Korzystny wpływ zastosowania szczepionek mikoryzowych ujawnia się w czasie występujących susz, niekorzystnych warunków atmosferycznych, niedoboru składników pokarmowych oraz migrowania nowych organizmów chorobotwórczych i szkodników, których nie daje się zwalczyć dostępnymi środkami ochrony roślin. „Mikoryzacja” roślin uprawnych może przynieść znaczące korzyści dla rolnictwa związane z ograniczeniem kosztów produkcji, wzrostem uzyskiwanych plonów i poprawą jakości produkowanej żywności. Udowodniono też, że mikoryza wspomaga procesy glebotwórcze i przyczynia się do kształtowania różnorodności pokrywy roślinnej, szczególnie na glebach silnie zdegradowanych.

Mikroorganizmy wywołujące choroby roślin

Nie wszystkie mikroorganizmy w środowisku rolniczym mają korzystne działanie lub są nieszkodliwe. Niektóre drobnoustroje są sprawcami chorób roślin uprawnych i powodują duże straty ekonomiczne. Wszystkie rośliny narażone są na infekcje wywoływane przez patogeniczne grzyby, bakterie, wirusy i wiroidy, fitoplazmy lub pierwotniaki. Źródłami zakażeń są przeważnie gleba, porażone rośliny, resztki porażonych roślin pozostające w polu po zbiorach, skażone nasiona, rozsada, nawozy organiczne zawierające jednostki propagacyjne patogenów, woda, nie odkażone narzędzia itp. Patogeny mogą być rozprzestrzeniane przez wiatr, wodę, zwierzęta, ludzi, sprzęt rolniczy oraz wprowadzane do środowiska

wraz ze skażonym materiałem roślinnym. Drogi infekcji roślin są bardzo różne, np. patogeny mogą wnikać do tkanek roślin przez naturalne otwory: szparki, przetchlinki lub hydatody, przez zranienia, korzenie lub mogą rozwijać się na powierzchni roślin.

Patogeny dostosowane są do różnych warunków glebowych i klimatycznych, a istotnym problemem ostatnich czasów jest ich wzrastająca odporność na chemiczne środki ochrony roślin.

Największe straty ekonomiczne powodują choroby wywoływane przez grzyby i bakterie. Problemy z grzybami powodującymi choroby odglebowe zwiększyły się ze względu na brak skutecznych środków do odkażania gleby, a uprawa roślin w monokulturze z roku na rok zwiększa kumulację patogenów atakujących roślinę-gospodarza. Choroby bakteryjne i fitoplazmy stają się coraz bardziej poważnym problemem w uprawach, a jedną z głównych przyczyn takiego stanu rzeczy jest ich wysoka odporność na środki ochrony oraz brak na rynku skutecznych metod walki z tymi chorobami.

Problemy z mikroorganizmami chorobotwórczymi wciąż w rolnictwie narastają, dlatego tak ważne jest, aby stosować odpowiednie metody nie tylko zwalczania, ale także zapobiegania ich rozwojowi. Wprowadzenie do upraw właściwego zmianowania i nawożenia organicznego zwiększa bioróżnorodność, a tym samym naturalną odporność środowiska. Inną skuteczną metodą jest używanie zdrowego materiału siewnego i rozmnożeniowego, a także eliminacja roślin chorych. Należy zwalczać chwasty i szkodniki, które mogą być źródłem infekcji, a także usuwać skażone resztki pożniwne z pól, gdzie wystąpiły choroby. Ważne jest również zachowanie zasad higieny podczas uprawy i pielęgnacji roślin: stosowanie środków dezynfekcyjnych do odkażania narzędzi, obuwia, sprzętów, używanie nieskażonej wody. W ostatnich czasach wiele badań poświęca się poszukiwaniom mikroorganizmów antagonistycznych wobec drobnoustrojów patogenicznych oraz opracowaniom technologii ich stosowania tak, aby mogły aktywnie konkurować z patogenami w środowisku, obniżając ich potencjał chorobotwórczy.

Literatura

- Agrios G.N. 2005. Plant pathology. Elsevier Academic Press, USA.
- Baj J., Markiewicz Z. 2006. Biologia molekularna bakterii. PWN, Warszawa.
- Głuszek S., Sas-Paszt L., Sumorok B., Derkowska E. 2008. Wpływ mikoryzy na wzrost i plonowanie roślin ogrodniczych. Postępy Nauk Rol. 6: 11-22
- Janse J.D. 2009. Phytobacteriology principles and practice. CABI, UK.
- Kalitkiewicz A., Kępczyńska E., 2008. Wykorzystanie ryzobakterii do stymulacji wzrostu roślin. Biotechnologia 2 (81): 102 – 114.
- Kryczyński S., Weber Z. 2010. Fitopatologia. PWRiL, Poznań
- Kwaśna H. 2007. Mikrobiologia dla studentów uczelni rolniczych. Wydawnictwo AR im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu.
- Libudysz Z., Kowal K., Żakowska Z. 2009. Mikrobiologia techniczna. Tom 1 i 2. PWN, Warszawa.
- Martyniuk S. 2008. Znaczenie procesu biologicznego wiązania azotu atmosferycznego w rolnictwie ekologicznym. J. Res. Appl. Agric. Engng. 53 (4): 9 – 14.
- Siddiqui Z.A. (Ed.) 2006. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, The Netherlands.

Część 3

MOŻLIWOŚCI I SKUTKI SKAŻEŃ MIKROBIOLOGICZNYCH PRODUKTÓW ROŚLINNYCH

Urszula Smolińska

Wprowadzenie

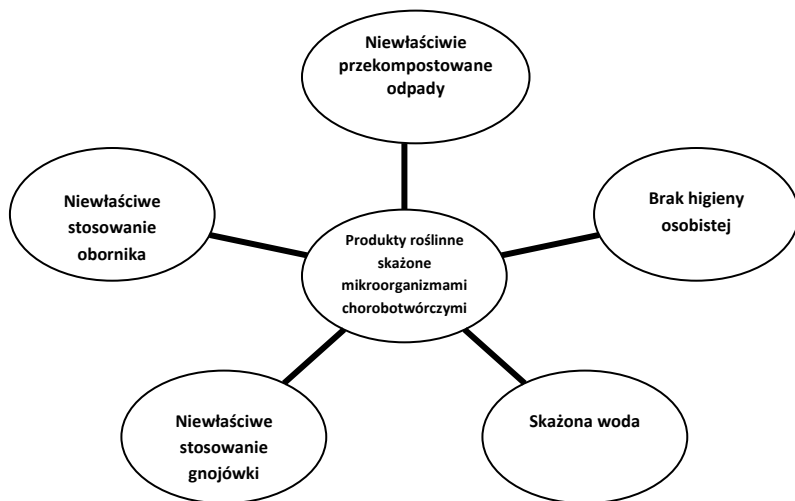
Ważnym elementem zapewnienia bezpieczeństwa żywności jest unikanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych. Trwałość produktu zależy od wyjściowego stopnia zanieczyszczenia oraz od szybkości wzrostu drobnoustrojów. W przypadku produktów roślinnych przeznaczonych do bezpośredniego spożycia ich trwałość i stan sanitarny zależy od zachowania zasad higieny podczas procesów przygotowywania, pakowania oraz właściwego przechowywania. Szczególnie istotne jest ograniczenie występowania potencjalnie chorobotwórczych dla ludzi bakterii, zwłaszcza *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* lub *Escherichia coli*. Wymienione bakterie stanowią najczęstszą przyczynę zatruć pokarmowych.

W ostatnich latach, ze względu na konsumpcję większej ilości warzyw i owoców, odnotowano znaczący wzrost zachorowań związanych ze spożyciem skażonych świeżych produktów roślinnych. Zważywszy na to, że w wielu sytuacjach trudno jest określić źródło zatrucia pokarmowego, takich przypadków mogło być więcej. Dlatego, wskazane jest podniesienie świadomości producentów żywności oraz konsumentów odnośnie możliwych źródeł i czynników wywołujących skażenia mikrobiologiczne produktów roślinnych. Ważną rolę w zapewnieniu bezpieczeństwa żywności stanowią także badania monitoringowe, pozwalające stwierdzić, czy produkowana żywność jest bezpieczna dla zdrowia.

Źródła skażeń mikrobiologicznych

Warzywa i owoce naturalnie są zasiedlone przez liczne grupy mikroorganizmów, które nie są chorobotwórcze dla człowieka. Jednak istnieje wiele czynników, które mogą spowodować

wystąpienie skażenia tych produktów przez mikroorganizmy patogenne dla ludzi. Zanieczyszczenia mogą nastąpić już na etapie uprawy, ale również później podczas zbiorów, wstępnej obróbki, pakowania, przechowywania, transportu, a także dystrybucji.



Rys.1. Źródła skażeń warzyw i owoców mikroorganizmami patogennymi dla człowieka

Głównymi źródłami zanieczyszczeń mikrobiologicznych jest gleba, niewłaściwie stosowane nawozy naturalne (oborniki, gnojowica, gnojówka), komposty przygotowywane z dodatkiem odchodów zwierzęcych, a także woda skażona bakteriami fekalnymi, używana do podlewania oraz mycia warzyw lub, z którą rośliny mają kontakt w inny sposób. Skażenie warzyw może nastąpić również w wyniku kontaktu ze zwierzętami lub ludźmi, będącymi nosicielami chorobotwórczych bakterii.

Najbardziej narażone na skażenia są warzywa i owoce, które mają bezpośredni kontakt z glebą, a więc warzywa korzeniowe, ale także liściowe jak np. sałaty, szpinak, zioła. Jest to zrozumiałe, ponieważ w 1 gramie gleby znajduje się ok. 10^6 - 10^9 jtk (jednostek

tworzących kolonie) bakterii oraz ok. 10^3 - 10^4 jtk grzybów. Gleba może być źródłem chorobotwórczych organizmów, które dostały się do niej wraz z nawozami naturalnymi, odchodami zwierząt lub wodą irygacyjną.

Te części jadalne warzyw, które nie mają bezpośredniego kontaktu z glebą mogą być z kolei zakażone poprzez stosowanie zanieczyszczonej wody do oprysków lub do podlewania. Często woda do opryskiwania roślin jest pozyskiwana ze zbiorników i ujęć wykorzystywanych do nawadniania, ze stawów lub innych tego typu źródeł. Opryskiwanie roślin naraża je na bezpośredni kontakt z zanieczyszczoną wodą. Podobne zasady odnoszą się do wody stosowanej do podlewania roślin, która często wymieniana jest jako źródło skażeń mikrobiologicznych w uprawach. Patogeny przenoszone przez wodę najczęściej pochodzą z przewodów pokarmowych zwierząt i ludzi i są wydalone wraz z odchodami. Nawet niewielka ilość odchodów w wodzie może stanowić zagrożenie dla zdrowia.

W przypadku podlewania, zakażenie roślin jest uzależnione od odległości części jadalnej od ziemi, struktury powierzchni części jadalnej (gładka, szorstka, pomarszczona), która ma wpływ na zatrzymywanie wody, częstotliwości podlewania oraz od systemu nawadniania (kroplowe, zalewowe, zraszanie). Szczególnie dwa ostatnie systemy sprzyjają skażeniom, ponieważ woda ma większy kontakt z częściami jadalnymi roślin.

Prawdopodobieństwo skażenia roślin zwiększa się, gdy są zasilane różnymi roztworami odchodów zwierzęcych lub tzw. „gnojówek” roślinnych fermentowanych z dodatkiem odchodów.

Trzeba pamiętać, że mycie roślin tylko w niewielkim stopniu usuwa mikroorganizmy z ich powierzchni.

Płuczac i myjąc warzywa lub owoce, usuwamy jedynie powierzchniowe zanieczyszczenia: kurz, zabrudzenia ziemią i mikroorganizmy z nimi związane. Jednak mikroflora zasiedlająca bezpośrednio powierzchnię roślin, zarówno korzenie jak i części nadziemne, jest ściśle z nią powiązana, a utworzony przez mikroorganizmy biofilm nie ulega spłukaniu. Mikroorganizmy są

zdolne do zasiedlania również wewnętrznych tkanek roślin, a ostatnie badania dowodzą, że taką zdolność posiadają także bakterie chorobotwórcze. Mogą się one przedostać do wnętrza rośliny z gleby poprzez system korzeniowy, a następnie są dalej transportowane przez system naczyniowy. Na tego typu skażenia są bardzo narażone młode rośliny, których korzenie intensywnie pobierają wodę i składniki pokarmowe, a ponadto jako mniej zdrewniałe są bardziej narażone na uszkodzenia, przez które również mogą wnikać patogeny. Mikroorganizmy chorobotwórcze, które dostaną się do wnętrza rośliny, mogą w niej przetrwać przez długi czas, nawet do zbioru. Po zbiorach z kolei mogą się rozprzestrzenić w czasie przygotowywania warzyw, np. krojonych i pakowanych.

W rolnictwie bardzo cennymi materiałami organicznymi są nawozy naturalne: obornik i gnojowica, które są źródłem wartościowych składników dla produkcji roślinnej. Jednak niewłaściwie przygotowane, składowane i stosowane mogą być poważnym źródłem skażenia produktów roślinnych mikroorganizmami chorobotwórczymi.

W skład nawozów naturalnych wchodzi odchody zwierzęce, kał i mocz, które zawierają ogromną ilość mikroorganizmów, w tym drobnoustroje chorobotwórcze dla człowieka. Przykładowo w żołądku krowy znajduje się ok. 50 gatunków bakterii w ilości 10^{10} komórek/cm³, grzybów beztlenowych 10^5 zoospor/cm³, orzęsek w ilości 10^6 /cm³, czy bakteriofagów 10^9 /cm³. Najprawdopodobniej liczby te są znacznie większe, ponieważ większość z tych mikroorganizmów jest niehodowalna w warunkach laboratoryjnych.

Mikroorganizmy chorobotwórcze mogą przeżyć w nawozach naturalnych lub w glebie przez dłuższy okres czasu.

Ten czas jest zależny m.in. od rodzaju organizmu, warunków klimatycznych (np. bakterie patogeniczne dłużej przeżywają w niższej temperaturze) i glebowych, a także od zagęszczenia mikroorganizmów (im więcej patogenów tym dłużej mogą przeżyć w danym środowisku). Doświadczalnie udowodniono, że bakterie chorobotwórcze *E. coli* O157:H7 i *Salmonella* mogą przeżyć w

oborniku od 70 do 260 dni. *E. coli* O157:H7, które dostały się do gleby z obornikiem bydlęcym przeżyły 8 tygodni. W innych badaniach *E. coli* O157:H7 wprowadzone do kompostu zawierającego obornik i pomiot kurzy, którym nawieziono glebę, były wykrywane w tej glebie jeszcze po 200 dniach, a w warzywach uprawianych na tej glebie nawet po 177 dniach. W przypadku *L. monocytogenes* stosowanie nawozów naturalnych, bez poddania ich procesom sanityzacji, może stanowić drogę skażenia świeżych produktów, ponieważ również te bakterie są zdolne do przeżycia w glebie przez kilkadziesiąt dni.

Przez ostatnich kilkadziesiąt lat naukowcy zaobserwowali zdolności adaptacyjne chorobotwórczych mikroorganizmów, które czynią je bardziej odpornymi na stresy środowiskowe. Dzięki czemu patogeny uzyskały zdolność przeżycia i namnażania się tam, gdzie dawniej to nie było dla nich możliwe.

Kompostowanie jest jednym ze sposobów niszczenia patogenów obecnych w obornikach lub innych zanieczyszczonych materiałach organicznych.

Dojrzały kompost jest zazwyczaj bezpieczny pod względem sanitarnym i może być stosowany powszechnie w rolnictwie do użyźniania i poprawy struktury gleb. Akty prawne regulujące rynek nawozów organicznych to normy ustawowe, określające dopuszczalne zawartości zanieczyszczeń oraz uzupełniające normy prawne ukierunkowane na ochronę środowiska. Przepisów dotyczących biologicznego przetwarzania odpadów nie stosuje się do osób fizycznych, więc szczególnie narażone na skażenie są komposty produkowane przez indywidualnych rolników. Nie muszą oni, w przeciwieństwie do firm produkujących komposty na skalę komercyjną, uzyskiwać zezwolenia ministra właściwego do spraw rolnictwa. Zezwolenie takie uzyskuje się po przeprowadzeniu badań określających przydatność kompostu do nawożenia roślin i stwierdzających, czy nie wywiera on szkodliwego wpływu na zdrowie zwierząt i ludzi. Warunki, jakie powinien spełniać kompost, aby bezpiecznie mógł być stosowany w uprawach, regulują ustawy (Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r.), w których ustalono dopuszczalne

zwartości zanieczyszczeń metalami ciężkimi oraz organizmami chorobotwórczymi. Określono, że liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (w skład których wchodzi bakteria *E. coli*), w przypadku nawozów organicznych nie powinna przekraczać 1000 jednostek tworzących kolonie (jtk) na gram. Nawóz organiczny nie może zawierać bakterii z rodzaju *Salmonella* oraz jaj pasożytów jelitowych *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., *Toxocara* sp.

Należy jednak podkreślić, że nawozy naturalne stosowane w rolnictwie są cennymi materiałami, bogatymi w składniki mineralne, substancję organiczną i mikroorganizmy korzystnie wpływające na urodzajność gleby. Jednak powinny być właściwie przygotowane i stosowane, aby zapewnić bezpieczeństwo konsumenta żywności produkowanej z ich użyciem.

Skutki skażeń mikrobiologicznych oraz mikroorganizmy chorobotwórcze w żywności

Istnieje wiele czynników, które mogą doprowadzić do zanieczyszczenia żywności chorobotwórczymi mikroorganizmami, co może być zagrożeniem dla zdrowia człowieka. Głównym źródłem zanieczyszczenia produktów roślinnych jest skażona gleba i woda. Mikroorganizmy patogenne, które znajdują się na warzywach lub owocach, dostają się drogą pokarmową do organizmu człowieka. Zatrucia pokarmowe znajdują się w czołówce chorób związanych z czynnikami infekcyjnymi. Uważa się, że liczba zatruc, za które są odpowiedzialne mikroorganizmy, w każdym roku dotyczy ok. 30% ludzi na świecie. Dane z ostatnich lat wskazują, że liczba doniesień na temat zachorowań wywołanych spożyciem skażonych warzyw i owoców rośnie z roku na rok. Jest to związane z większą konsumpcją świeżych produktów roślinnych, często wstępnie przetworzonych i sprzedawanych jako gotowe do spożycia. Problem ten może być nawet większy, zważywszy na to, że w wielu sytuacjach trudno jest wyśledzić faktyczne źródła choroby.

W przypadku warzyw, najczęściej zatruc było odnotowywanych po zjedzeniu warzyw liściowych jak sałata i szpinak, różnorodnych kiełków i pomidorów, które są jedzone na surowo lub tylko wstępnie przygotowane do spożycia.

Dużo doniesień jest także na temat zatruc po zjedzeniu melonów. Świadczy to o tym, że te rośliny są najbardziej podatne na skażenia i ich produkcja wymaga zachowania szczególnych zasad higieny i bezpieczeństwa.

Zatrucia pokarmowe wywołują głównie bakterie, wirusy i mikotoksyny – toksyczne substancje produkowane przez grzyby pleśniowe (opisane w części 5). W przypadku warzyw lub owoców poważne, zbiorowe zatrucia po spożyciu tych produktów były najczęściej powodowane przez bakterie *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* i *Listeria monocytogenes*.

Wystąpienie choroby i intensywność jej przebiegu u osoby spożywającej skażoną żywność zależy od wielu czynników, wśród których najważniejsze to: rodzaj i liczba komórek patogena wnikającego do organizmu oraz odporność immunologiczna i ogólna kondycja zakażonej osoby. Najbardziej narażone na zakażenia są dzieci do 4 lat, osoby starsze, kobiety w ciąży oraz ludzie chorzy. Większość zatruc pokarmowych ulega samowyleczeniu, są jednak i takie, które powodują ciężką chorobę, a nawet śmierć.

Poniżej przedstawiono charakterystyki mikroorganizmów chorobotwórczych, które mogą występować na produktach roślinnych.

Escherichia coli (pałeczka okrężnicy). Bakterie te występują w postaci ponad 180 tzw. typów serologicznych. Są to bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, naturalnie zasiedlające przewód pokarmowy zdrowych ludzi i zwierząt, gdzie biorą udział w rozkładzie substancji pokarmowych oraz syntetyzują witaminy z grupy B i K. Niestety w obrębie tego gatunku mogą występować także szczepy patogenne dla człowieka np. O157:H7 lub O104. W zależności od typu tej bakterii, *E. coli* mogą wywoływać choroby różniące się znacznie objawami. Najczęściej objawami zatrucia przez te bakterie są: biegunka, bóle brzucha, nudności, wymioty, bóle głowy i gorączka, pojawiające się od 2 do 72 godzin po spożyciu pokarmu. Szczególnie niebezpieczne są tzw. werotoksyczne szczepy *E. coli*. Nie występują one naturalnie w przewodzie pokarmowym człowieka, lecz znajdują się u zdrowych zwierząt hodowlanych,

takich jak: krowy, owce, kozy, świnie. Mogą więc być obecne w obornikach lub gnojowicy. *E. coli* są spotykane w naturalnych zbiornikach wodnych, zwłaszcza takich, do których dostają się odchody zwierząt. Owoce lub warzywa skażone tymi bakteriami nie zmieniają swojego wyglądu. Zjedzenie ich lub wytworzonego z nich produktu, np. surówki może wywołać ciężką chorobę. W 2011 r. w Niemczech epidemia wywołana bakterią *E. coli* O104 spowodowała zachorowanie ponad 2000 osób, co skutkowało trwałymi uszkodzeniami nerek i kilkoma zgonami.

Salmonella to bakterie należące do rodziny *Enterobacteriaceae*, zdolne do wzrostu w szerokim zakresie temperatur (5,2 - 49°C) i pH (4 – 9). Bakterie *Salmonella* są zabijane w temperaturze powyżej 70°C. Natomiast są niezwykle odporne na wysuszenie i mogą przeżyć w suchej glebie, kale czy żywności nawet wiele lat. Podobnie jak w przypadku *E. coli*, naturalnym miejscem bytowania tych bakterii jest przewód pokarmowy człowieka i zwierząt. Wraz z odchodami bakterie te przedostają się do środowiska naturalnego. Wprawdzie główną rolę w zakażeniach bakteriami *Salmonella* odgrywają produkty pochodzenia zwierzęcego, ale mogą być nimi zakażone również produkty roślinne. Zatrucia pokarmowe wywoływane przez te patogeny, zwane salmonellozami, znajdują się na pierwszym miejscu wszystkich zakażeń bakteryjnych i zatruc pokarmowych (kilkanaście tysięcy przypadków w ciągu roku w Polsce). Typowe objawy salmonellozy to: biegunka, wymioty, bóle brzucha, bóle mięśni, gorączka. Objawy pojawiają się zazwyczaj po kilku godzinach od spożycia skażonej żywności, lecz mogą wystąpić także po 5 dniach. Najbardziej narażone są dzieci do lat 3 i osoby starsze.

Listeria monocytogenes jest szeroko rozpowszechniona w środowisku. Bakterie te mogą występować w glebie, wodzie, na roślinach, w odchodach zwierząt i nawozach naturalnych. Według FAO/WHO około 6 - 10% populacji ludzkiej jest nosicielami tej bakterii. Głównym źródłem zakażenia *L. monocytogenes* jest mleko i jego przetwory, warzywa i owoce, mięso oraz wyroby mięsne i jaja.

Bakterie te są wyjątkowo odporne na zakwaszenie środowiska i wysokie stężenia jonów sodowych (główne czynniki konserwujące w wielu produktach spożywczych). Natomiast są wrażliwe na działanie podwyższonej temperatury: w 60°C giną po ok. 10 min., a w wyższych temperaturach po kilku sekundach. Przechowywanie żywności w warunkach chłodniczych nie zapobiega rozwojowi bakterii, ponieważ potrafi ona rozmnażać się w niskiej temperaturze. Początkowo bakterie te wywoływały choroby u zwierząt. Pierwsze przypadki listeriozy u ludzi zarejestrowano w latach 80-tych ubiegłego wieku. Objawy mogą być łagodne, podobne do grypy, ale występują również w znacznie poważniejszej formie, która może doprowadzić do zapalenia opon mózgowych, a nawet śmierci. Mimo, że listerioza jest zakażeniem rzadkim, choroba ta często przebiega w sposób ciężki z dużym wskaźnikiem śmiertelności.

Shigella - bakterie te, podobnie jak poprzednie, należą do rodziny *Enterobacteriaceae*. Występują w przewodzie pokarmowym ludzi. Źródłem zakażenia jest chory lub zdrowy człowiek (nosiciel). Do skażenia żywności (drób, mleko i przetwory mleczne, warzywa, sałatki) może dojść wskutek nieprzestrzegania higieny osobistej, poprzez zanieczyszczoną wodę lub żywność. Bakterie *Shigella* rosną w temperaturze 10 - 48°C, giną natomiast w temperaturze powyżej 55°C. Są wrażliwe na powszechnie stosowane środki dezynfekcyjne. Prawidłowo usytuowane, czyste obiekty sanitarne i mycie rąk po wyjściu z toalety zapobiega przenoszeniu bakterii na żywność. *Shigella* (*S. dysenteriae*) wywołuje chorobę zwaną czerwonką w ciągu 1 do 7 dni od zakażenia. Bakterie rozwijają się w układzie pokarmowym człowieka, wywołując ostrą, śluzowo-krwawą biegunkę, bóle brzucha, wymioty i wysoką temperaturę.

Campylobacter jejuni oraz **C. coli** należą do rodziny *Campylobacteriaceae*. Występują w jelitach zwierząt dzikich, hodowlanych oraz domowych (bydło, świnie, owce, ptaki, psy, koty). Mogą znajdować się w zbiornikach wodnych. Czynnikiem wywołującym chorobę jest wytwarzana przez bakterie toksyna CJT

powodująca ostre zapalenie żołądka i jelit. Początkowo objawy są podobne do grypy, potem pojawia się biegunka (czasami z domieszką krwi), bóle brzucha i mdłości. Okres wylegania choroby wynosi 2 - 5 dni. U osób z osłabionym układem odpornościowym mogą wystąpić groźne powikłania (np. zapalenie opon mózgowych). Objawy najczęściej ustępują po ok. tygodniu. Szczyt zachorowań przypada na miesiące letnie. Choroby wywoływane przez *Campylobacter* są bardzo częste w krajach Unii Europejskiej. W ostatnich latach nastąpił ogromny wzrost liczby zakażeń pokarmowych, których przyczyną są te bakterie. W statystykach epidemiologicznych schorzeń układu pokarmowego (zwłaszcza krajów uprzemysłowionych) patogen ten zaczął wyprzedzać liczbę najczęstszych dotąd infekcji przypisywanych bakteriom *Salmonella* i *Shigella*.

Yersinia enterocolitica. W wielu krajach uprzemysłowionych *Y. enterocolitica* jest jedną z głównych przyczyn chorób gastrycznych u dzieci. Bakteria może występować w glebie, żywności (zwłaszcza mięsie), mleku i wodzie. Zakażenie może nastąpić także przez kontakt z zakażonymi zwierzętami i ludźmi. Obecnie na całym świecie, w tym i Polsce, dominuje serotyp O:3. Jego głównym nosicielem i źródłem zakażenia są świnie (np. w Danii ponad 80% świń jest zakażonych tą bakterią), dla których jest to naturalna flora bakteryjna. W Europie najwięcej przypadków tej choroby stwierdza się jesienią i zimą. Pierwszym objawem jest wodnista biegunka trwająca 3 - 14 dni. U starszych dzieci występują objawy takie jak przy zapaleniu wyrostka robaczkowego, a u osób dorosłych może pojawić się rumień (1 - 2 tygodnie po zapaleniu jelit). Groźniejszym powikłaniem jest zapalenie stawów lub posocznica. Bakterie *Yersinia* są wyjątkowo odporne, ponieważ mnożą się nawet w niskich temperaturach (-2°C do 45°C).

Wirusy enteropatogenne (najczęściej rotawirusy), wywołujące zakażenia jelitowe mogą wnikać do organizmu człowieka wraz z żywnością lub wodą zanieczyszczoną fekaliami. Spośród artykułów żywnościowych, przeważnie są to produkty, które nie wymagają

obróbki cieplnej, takie jak: owoce, sałatki, przystawki. Wirusy te mogą także znajdować się na sprzęcie używanym do produkcji bądź przechowywania żywności. Źródłem zakażenia jest osoba chora lub rekonwalescent, wydalający wraz z kałem duże ilości cząstek wirusa i nie zachowujący odpowiedniej higieny. Rotawirusy są najczęstszą przyczyną ostrej biegunki u dzieci i dla nich właśnie są najniebezpieczniejsze. Po ustąpieniu choroby wirus wydalany jest z organizmu przez długi okres czasu, nawet do miesiąca.

Główne sposoby ograniczania ryzyka skażeń mikroorganizmami chorobotwórczymi:

- stosowanie zasad Dobrej Praktyki Rolniczej w gospodarstwach, a w szczególności właściwe stosowanie nawozów naturalnych,
- dbałość o czystość wody używanej w uprawach oraz do mycia produktów i higieny osobistej,
- niestosowanie nawozów i środków wspomagających wzrost roślin o złym lub niepewnym stanie sanitarnym, które mogą być źródłem skażenia,
- zapobieganie przedostawaniu się fekaliiów do gleby i wody,
- utrzymywanie porządku i higieny w gospodarstwie,
- dezynfekcja narzędzi, sprzętów i opakowań,
- higiena osobista pracowników,
- niedopuszczanie ludzi chorych do prac z produktami roślinnymi,
- zapobieganie kontaktom upraw ze zwierzętami.

Literatura

- Islam M., Doyle M.P., Phatak S.C., Millner P., Jiang X. 2004 Persistence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. J. Food Prot. 67: 1365 – 1370.
- Islam M., Doyle M.P., Phatak S.C., Millner P., Jiang X. 2005 Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on carrots and onions grown in fields treated with contaminated manure compost or irrigation water. Food Microbiol. 22: 63 – 70.
- Libudysz Z., Kowal K., Żakowska Z. 2008. Mikrobiologia techniczna. Mikroorganizmy w biotechnologii, ochronie środowiska i produkcji żywności. PWN, Warszawa.
- Microbial safety of fresh produce. 2009. Edytorzy: X. Fan, B.A. Niemira, C.J. Doona, F.E. Feeherry and R.B. Gravani. Wiley-Blackwell Publisher: 446.
- Mielczarek P., Bałąj M. 2004. Jersinioza - rzadko rozpoznawana choroba układu pokarmowego. Gastroenterologia Pol. 11: 69 -74.
- Kordowska-Wiater M., Janas P., Sosonowska B., Waśko A., Nowak A., Kluza B. 2007. Występowanie bakterii patogennych oraz drobnoustrojów wskaźnikowych zanieczyszczenia fekalnego w mrożonych warzywach. ZNTJ 2:134 -144.
- Sip A. 2010. Bakterie *Listeria monocytogenes*. Cz. I. Występowanie i źródła zanieczyszczeń żywności. Przem. Spoż. 64:42-43.
- Piskula M K., Strączkowski M., Żmudzki J., Osek J., Niemczuk K., Horbańczuk J. O., Skomił J. 2011. Charakterystyka czynników decydujących o bezpieczeństwie konsumentów i jakości prozdrowotnej żywności. Polish J. Agron. 7: 82-91.
- Szymczak B., Sawicki W., Bogusławska-Wąs E., Koronkiewicz A., Dąbrowski W. 2011. Występowanie *L. monocytogenes* w świeżych owocach i warzywach pochodzących z upraw ekologicznych województwa zachodniopomorskiego. ZNTJ 2: 67-76.

Część 4

JAK ZAPOBIEGAĆ SKAŻENIOM MIKROBIOLOGICZNYM PRODUKTÓW ROŚLINNYCH CZYLI DOBRE PRAKTYKI ROLNICZE

Magdalena Szczech

Wprowadzenie

W ostatnich dziesięcioleciach nastąpiły znaczące zmiany stylu życia. Wiąże się to również ze zmianą codziennej diety, w której zalecane jest większe spożycie owoców i warzyw, szczególnie świeżych. Jedzenie dużej ilości warzyw i owoców jest skutecznym sposobem zapobiegania chorobom cywilizacyjnym XXI wieku: otyłości, cukrzycy, chorobom krążenia oraz nowotworom.

Jednak zwiększona konsumpcja surowych produktów spowodowała też wzrost odnotowanych na całym świecie przypadków zatruć pokarmowych po spożyciu warzyw.

Zatrucia są związane ze skażeniami bakteryjnymi wywoływanymi najczęściej przez *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* oraz *Listeria monocytogenes*. Bakterie te rozwijają się w przewodzie pokarmowym zwierząt stałocieplnych, a także człowieka i wraz z odchodami lub produktami odzwierzęcymi mogą przedostać się do środowiska.

Na większe ryzyko skażeń mikrobiologicznych są narażone uprawy, gdzie stosowane są nawozy naturalne, zawierające odchody zwierząt, niż uprawy nawożone mineralnie.

W ostatnich latach prowadzono intensywne badania na temat określenia skali tych zagrożeń oraz ich potencjalnych źródeł. Porównywano stopień skażenia produktów roślinnych, w tym warzyw, pochodzących z różnych systemów upraw. Uzyskano różnorodne rezultaty. Analizując jednak te wyniki można stwierdzić, że nawożenie mineralne stanowi małe ryzyko skażeń

mikrobiologicznych. W tego typu uprawach zagrożenie może być związane głównie z używaniem zanieczyszczonej wody lub stanem higieny podczas prac polowych i zbiorów. Również w uprawach prowadzonych zgodnie z zaleceniami dotyczącymi sanitzacji, właściwego przechowywania i kompostowania oraz właściwych terminów aplikacji nawozów naturalnych, ryzyko skażeń jest raczej niewielkie. Natomiast tam, gdzie stwierdzono niewłaściwe stosowanie nawożenia oraz/lub brak dbałości o zachowanie zasad higieny w gospodarstwach, ryzyko wzrastało.

W badaniach, prowadzonych przez pracowników Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach porównywano stan sanitarny warzyw pochodzących z upraw ekologicznych i konwencjonalnych. Stwierdzono znacznie większe skażenie warzyw ekologicznych bakteriami z grupy coli oraz kałowymi bakteriami *E. coli* niż odnotowano to dla warzyw z upraw konwencjonalnych. Obie grupy tych bakterii są uznawane za wskaźniki stanu sanitarnego produktów spożywczych, w tym roślinnych. Należy zaznaczyć, że nie we wszystkich uprawach ekologicznych wykrywano te bakterie, jednak częstotliwość ich występowania i poziom były istotnie większe w ekologii niż w warzywach konwencjonalnych. W niektórych przypadkach liczebność bakterii kałowych przekraczała ilości dozwolone dla produktów spożywczych (100 jednostek tworzących kolonie/ 1 g). Wyniki tych badań przedstawiono w części 1.

Podobne wyniki uzyskali także badacze amerykańscy, analizując warzywa i owoce pochodzące z farm konwencjonalnych, organicznych certyfikowanych oraz z gospodarstw, które deklarowały, że uprawiają warzywa w sposób ekologiczny, ale nie posiadały certyfikatów. Stwierdzono, że stosowanie nawozów naturalnych, szczególnie oborników bydlęcych, zwiększało ryzyko skażenia warzyw bakteriami *E. coli*. Większe zanieczyszczenia odnotowano w uprawach ekologicznych, głównie nie certyfikowanych. Wzrost ryzyka był związany z niewłaściwym, niezgodnym z zaleceniami, używaniem nawozów naturalnych, szczególnie stosowaniem nawozów świeżych - nie przekompostowanych.

Aplikacja oborników, które „dojrzewały” co najmniej przez 6 miesięcy przed użyciem czterokrotnie zmniejszała ryzyko skażenia produktów roślinnych.

Tego typu obserwacje są nie bez znaczenia dla zachowania bezpieczeństwa w łańcuchu produkcji żywności nie tylko ekologicznej, ale również we wszystkich uprawach, gdzie stosowane są nawozy i inne preparaty mogące być potencjalnymi nośnikami chorobotwórczych mikroorganizmów. W dążeniu do ochrony środowiska naturalnego, poprzez ograniczenie stosowania tzw. „chemii”, powinniśmy być jednocześnie świadomi innych zagrożeń, które mogą wynikać ze zmiany sposobów gospodarowania, systemów uprawy roślin oraz odżywiania. Używane, często w nadmiarze, środki chemiczne powodowały, że szkodliwe substancje przenikały m.in. do wody i żywności. Jednak z drugiej strony stosowanie tych środków ograniczało możliwość rozwoju mikroorganizmów chorobotwórczych.

Wycofując z uprawy lub ograniczając stosowanie syntetycznych środków, np. w uprawach integrowanych, na rzecz nawozów i produktów naturalnych, konieczne jest, aby pamiętać o zachowaniu właściwych zasad ich przechowywania i używania tak, aby eliminować ryzyko skażenia gleby, wody, a w następstwie żywności, mikroorganizmami chorobotwórczymi dla człowieka i zwierząt. W tym celu należy stosować się do dobrych praktyk rolniczych opartych na wieloletnich doświadczeniach i wiedzy.

Dobre praktyki rolnicze dla zachowania bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności

Dobre praktyki w obszarze rolnictwa (czyli produkcji pierwotnej) utożsamiane są z pojęciem Dobrej Praktyki Rolniczej (*ang.* Good Agricultural Practice - GAP). Każde gospodarstwo rolne produkujące żywność w Unii Europejskiej powinno wdrażać zasady Dobrej Praktyki Rolniczej, której celem jest zredukowanie ryzyka uchybień w zakresie bezpieczeństwa żywności w procesie produkcji. W Polsce zakres Dobrej Praktyki Rolniczej został określony w rozporządzeniu Rady Ministrów z dnia 14 kwietnia 2004 r. (Dz. U. z 2004 r. nr 73,

poz. 657). W rozporządzeniu tym znajdują się wymagania prowadzenia działalności rolniczej zgodnie z zasadami Zwykłej Dobrej Praktyki Rolniczej, dotyczące m.in.: gospodarki wodnej, stosowania nawozów i ich przechowywania, rolniczego wykorzystania ścieków i komunalnych osadów ściekowych oraz utrzymania czystości i porządku w gospodarstwie rolnym. Dla zachowania bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności w czasie jej produkcji bardzo ważne jest przestrzeganie poniżej wymienionych zasad.

Dbałość o jakość wody używanej w gospodarstwach

Powszechnie przyjmuje się, że w warunkach europejskich podstawowym zagrożeniem dla środowiska i produkcji rolnej jest zanieczyszczenie wód. Głównymi czynnikami zanieczyszczającymi wodę są: azotany skażające wody gruntowe, związki azotu i fosforu powodujące eutrofizację wód, pozostałości środków ochrony roślin lub leków weterynaryjnych, a także czynniki biologiczne, mogące przenikać do wód gruntowych i powierzchniowych.

Jakość mikrobiologiczna wody używanej do nawadniania roślin, stosowanej podczas zabiegów ochrony roślin, a także podczas mycia, sortowania oraz przy pakowaniu produktów roślinnych jest niezwykle istotna dla zachowania właściwego stanu sanitarnego tych produktów.

Woda stosowana w uprawie roślin powinna być dobrej jakości. Szczególnie woda do oprysków lub mycia roślin powinna spełniać standardy wody pitnej. Jest to szczególnie ważne w przypadku warzyw i owoców, które są jedzone świeże. Patogeny przenoszone przez wodę najczęściej pochodzą z przewodów pokarmowych zwierząt i ludzi.

Nawet niewielka ilość odchodów w wodzie może stanowić zagrożenie dla zdrowia.

W rolnictwie używane są wody gruntowe i powierzchniowe, duże znaczenie mają także wody opadowe. Zazwyczaj w wodach gruntowych mikroorganizmy chorobotwórcze nie powinny występować ze względu na naturalny mechanizm filtrujący gleby. Jednak w niektórych przypadkach konstrukcja i głębokość studni,

lokalizacja źródła wody, rodzaj podłoża, częstotliwość opadów i odległość od źródeł potencjalnych skażeń może mieć wpływ na jakość wód gruntowych. Znacznie bardziej na skażenia są narażone wody powierzchniowe, ponieważ mogą one wejść w bezpośredni kontakt z wszelkiego rodzaju odciekami lub ściekami ze składowisk stałych i płynnych odchodów zwierzęcych, szczególnie podczas opadów. Przeżywalność patogenów w wodzie zależy od wielu czynników: temperatury wody (niższa temperatura wody wydłuża żywotność mikroorganizmów), nasłonecznienia i intensywności promieniowania UV (mikroorganizmy lepiej przeżywają w ciemności), dostępności składników pokarmowych (odcieki lub ścieki dostające się do wody dostarczają mikroorganizmom składniki odżywcze do intensywnego rozwoju). Dla przykładu *E. coli* O157:H7 była wykrywana w wodzie skażonej obornikiem jeszcze po 90 dniach. Skażone wody powierzchniowe są częstym źródłem chorób związanych z piciem takiej wody lub skażeniem produktów spożywczych, które miały z nią kontakt.

Ochrona wód jest jednym z głównych punktów Kodeksu Dobrej Praktyki Rolniczej. Rolnicze źródła zanieczyszczenia wody dzielą się na punktowe i obszarowe. Do punktowych zalicza się wysypiska śmieci, nieszczelną kanalizację i instalacje sanitarne, składowiska stałych i płynnych odchodów zwierzęcych. Obszarowe źródła zanieczyszczeń wody stanowią użytki rolne.

Aby zapobiegać skażeniom wody z punktowych źródeł zanieczyszczeń należy:

- Starannie wykonywać oraz właściwie sytuować podłogi w pomieszczeniach inwentarskich oraz w zbiornikach na stałe i płynne odpady gospodarskie. Do odchodów i odpadów ciekłych zalicza się nawozy naturalne tzn. gnojowicę i gnojówkę oraz ścieki bytowe nie odprowadzane do kanalizacji zbiorczej. Do odchodów i odpadów stałych zalicza się oborniki, nawozy organiczne, komposty i śmieci.
- Ciała padłych zwierząt (z wyjątkiem małych i drobiu) nie mogą być zakopywane na terenie gospodarstwa lub w przyzmach obornika czy kompostu.

- Nawozy naturalne płynne i stałe powinny być przechowywane w specjalnych, szczelnych zbiornikach lub na płytach usytuowanych w odpowiedniej odległości od studni i innych źródeł zaopatrzenia w wodę dla ludzi i do wykorzystania w gospodarstwie.
- Obornik powinien być gromadzony i przechowywany na płytach gnojowych, zabezpieczonych przed przenikaniem wycieków do gruntu i zaopatrzonych w instalacje odprowadzające wycieki do szczelnych zbiorników na gnojówkę. Pojemność płyty gnojowej powinna zapewniać możliwość gromadzenia i przechowywania obornika przez okres co najmniej 6 miesięcy. Nie należy przechowywać obornika w przyzmach polowych, gdyż prowadzi to do zanieczyszczenia wód gruntowych.
- Zbiorniki na płynne odchody zwierzęce powinny mieć nieprzepuszczalne dno i ściany oraz szczelną pokrywę z otworem wentylacyjnym. Pojemność tych zbiorników powinna wystarczyć na przechowywanie tych nawozów co najmniej przez 6 miesięcy.
- Gospodarstwa posiadające indywidualne ujęcie wody powinny posiadać szczelny zbiornik do czasowego gromadzenia ciekłych nieczystości, które powinny być opróżniane, a zawartość dostarczana do najbliższej oczyszczalni ścieków. Nie wolno odprowadzać ścieków bezpośrednio do wód powierzchniowych ani rozlewać ich na pola.

Aby zapobiegać skażeniom wody z obszarowych źródeł zanieczyszczeń należy:

- Stosować nawozy naturalne w taki sposób i w takich terminach, które ograniczają ryzyko przemieszczania się patogenów do wód powierzchniowych i podziemnych.
- Nie wolno stosować nawozów naturalnych na terenach zalewanych wodą.
- Nawozów naturalnych nie należy stosować w odległości mniejszej niż 20 m od stref ochronnych źródeł i ujęć wody, brzegu zbiorników oraz cieków wodnych.
- Nawozy naturalne płynne mogą być stosowane, gdy poziom wody podziemnej jest poniżej 1,2 m.

Stosowanie nawozów naturalnych

Nawozy naturalne (oborniki, gnojówka, gnojowica) mają bardzo pozytywny wpływ na glebę, zwiększając zawartość materii organicznej i dostępnych dla roślin składników pokarmowych, poprawiając strukturę gleby, pojemność wodną oraz aktywując mikroflorę gleby.

Dobre Praktyki Rolnicze zalecają stosowanie nawozów naturalnych od 1 marca do 30 listopada. Najlepiej, jeśli nawozy azotowe i naturalne są aplikowane bezpośrednio przed wysiewem lub sadzeniem, w dawkach dostosowanych do aktualnych potrzeb pokarmowych roślin. Według zaleceń optymalnym terminem stosowania obornika jest wczesna wiosna ze względu na ograniczenie strat azotu. Obornik po aplikacji na pole należy od razu przykryć ziemią.

Nie dopuszcza się używania nawozów naturalnych pogłównie na rośliny przeznaczone do bezpośredniego spożycia przez ludzi i zwierzęta. Najlepiej stosować je pod rośliny o długim okresie wegetacji.

Pomimo zastrzeżenia przedstawionego w ramce powyżej, w Polsce zalecenia dotyczące używania oborników i innych nawozów naturalnych są jednak głównie skoncentrowane na zapobieganiu utracie składników pokarmowych, które mogą być np. wypłukiwane z gleby w okresie przed wysadzeniem roślin. Należy jednak wziąć pod uwagę, że zwierzęce odchody, znajdujące się w nawozach organicznych, bardzo często zawierają mikroorganizmy, które są chorobotwórcze dla człowieka. Wiele z nich zidentyfikowano jako czynniki zbiorowych zatruć pokarmowych po spożyciu skażonych produktów roślinnych.

Stosowanie świeżych nawozów stałych lub płynnych, a także źle przygotowanych kompostów stanowi w produkcji roślinnej duże ryzyko skażeń mikrobiologicznych.

Ilość i rodzaj patogenów w odchodach zależy od gatunku zwierzęcia, jego wieku, stanu zdrowia, diety i higieny w gospodarstwie. W obornikach czy gnojowicy, w odpowiednich warunkach, mogą przeżyć nawet przez kilkanaście tygodni. Redukcję

patogenów w odchodach można uzyskać dzięki przetrzymywaniu ich przez co najmniej kilka miesięcy przed użyciem, szybciej ten efekt można uzyskać, utrzymując wyższą temperaturę (ok. 37°C).

Stwierdzono, że aplikacja oborników, które „dojrzały” co najmniej przez 6 miesięcy przed użyciem czterokrotnie zmniejszała ryzyko skażenia produktów roślinnych.

Również czas pomiędzy stosowaniem oborników lub kompostów a zbiorem warzyw powinien być jak najdłuższy, co daje szansę na zmniejszenie populacji patogenów w glebie.

W Stanach Zjednoczonych, zgodnie z USDA National Organic Programm, zaleca się stosowanie nawozów naturalnych najwcześniej na 90 dni przed zbiorem roślin, których części jadalne nie mają bezpośredniego kontaktu z ziemią lub, które mają krótki okres wegetacji oraz na 120 dni przed zbiorem roślin o dłuższym okresie wegetacji. Ostatnie badania wykazały jednak, że nawet ten reżim czasowy nie zawsze jest wystarczający, ponieważ niektóre patogeny mogą przeżyć znacznie dłużej w glebie i na roślinach. Dlatego należy dążyć do eliminowania organizmów chorobotwórczych, znajdujących się w nawozach organicznych, jeszcze przed ich aplikacją do gleby.

Bardzo dobrym sposobem ograniczenia ryzyka związanego z użyciem nawozów naturalnych i organicznych z dodatkiem odchodów jest ich kompostowanie.

Kompostowanie oborników i wszelkich innych materiałów odzwierzęcych jest etapem niezbędnym do wyeliminowania chorobotwórczych dla człowieka mikroorganizmów jak: *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* czy *Listeria monocytogenes*, których nosicielami są zwierzęta. Jednak niekompletny lub niewłaściwie przeprowadzony proces kompostowania prowadzi do skażenia gleby, która może być źródłem chorobotwórczych mikroorganizmów na roślinach w niej uprawianych.

Szczególłą ostrożność należy zachować przy użyciu płynnych nawozów naturalnych.

Gnojówkę i gnojownicę powinno się stosować na nie obsianą glebę, najlepiej w okresie wczesnej wiosny. Te płynne nawozy mogą być stosowane do pogłównego nawożenia tylko niektórych roślin (użytki zielone, wieloletnie uprawy polowe). Najlepiej aplikować je przy pomocy rozlewaczy wyposażonych w węże rozlewające nawóz bezpośrednio na powierzchnię gleby lub w międzyrzędzia uprawianych roślin.

Nie dopuszcza się używania nawozów płynnych pogłównie na rośliny przeznaczone do bezpośredniego spożycia.

Również używanie różnych wyciągów z kompostów czy tzw. „gnojówek” z fermentowanych roślin z dodatkiem zwierzęcych odchodów np. kurzych może być źródłem skażenia szczególnie, gdy są aplikowane w formie oprysków i podlewania w celu „dokarmiania” roślin.

Patogeny dobrze przeżywają na korzeniach i liściach roślin, które mają kontakt z nawozem. Mogą być przenoszone przez krople deszczu, w czasie podlewania, a także przez zwierzęta.

Higiena pracowników

Zdrowie i higiena pracowników zaangażowanych w produkcję rolną jest ważnym czynnikiem w zachowaniu bezpieczeństwa żywności. Takie mikroorganizmy chorobotwórcze jak *Shigella* spp., *E. coli* O157:H7, wirus wywołujący żółtaczkę pokarmową typu A i nowowirusy mogą być łatwo roznoszone drogą „oralno-fekalną” przez pracowników, którzy są nosicielami tych patogenów. Dlatego osoby, które mają objawy chorobowe (m.in. biegunkę, wymioty) nie powinny mieć kontaktu z żywnością podczas zbioru, przygotowywania produktów i ich sprzedaży. Ponadto Dobre Praktyki Rolnicze określają wymagania w zakresie utrzymywania czystości i porządku w gospodarstwie rolnym. Przede wszystkim na terenie gospodarstwa powinien być porządek. Powinny również znajdować się urządzenia do gromadzenia odpadów komunalnych wytworzonych na jego terenie.

Należy zapewnić pracownikom dostęp do czystej toalety oraz zapewnić dostęp do czystej wody do mycia rąk.

Toalety powinny znajdować się również w pobliżu plantacji i powinny być zaprojektowane w sposób zapewniający higieniczne usuwanie odchodów i zanieczyszczeń oraz gwarantujące brak przecieków do wód gruntowych i powierzchniowych. Toalety muszą być regularnie myte i dezynfekowane.

Woda i gleba na obszarach upraw rolniczych nie mogą być zanieczyszczone fekaliami.

Pracownicy powinni myć ręce przed przystąpieniem do pracy w polu i po korzystaniu z toalety. Również sprzęt używany do zbioru, transportu, przechowywania i przetwórstwa owoców i warzyw powinien być myty, zgodnie z wdrożonymi procedurami mycia i dezynfekcji. Zachorowania wynikają także ze skażenia roślin patogenami z odchodów zwierząt gospodarskich, przebywających w uprawach lub dostających się do wody irygacyjnej.

Dlatego nie należy dopuszczać do kontaktu zwierząt z roślinami przeznaczonymi do konsumpcji, lecz utrzymywać je w bezpiecznej odległości w celu ograniczenia ryzyka.

Podobnie pomieszczenia, gdzie są przechowywane i przetwarzane produkty roślinne, powinny być zabezpieczone przed zwierzętami gospodarskimi, insektami, gryzoniami i ptakami.

Kompostowanie – najważniejsze informacje

Kompostowanie jest kontrolowanym procesem naturalnego rozkładu materii organicznej, w wyniku którego różnorodne odpady organiczne mogą być zmieniane w wartościowy i stabilny produkt służący do wzbogacenia gleby.

Podczas kompostowania oborników lub innych materiałów organicznych, zawierających odchody następuje niemal całkowita eliminacja organizmów chorobotwórczych dla człowieka.

Korzyści płynące ze stosowania kompostów są następujące:

- poprawa struktury i stosunków wodno-powietrznych w glebie,
- działanie strukturotwórcze,

- wzbogacenie gleby w składniki odżywcze dostępne dla roślin,
- zwiększenie aktywności mikrobiologicznej gleby,
- ograniczanie szkodliwego działania patogenów w glebie,
- właściwe kompostowanie zabija patogeny roślin oraz nasiona chwastów wprowadzone do kompostu wraz z materiałem roślinnym.

Wybór miejsca na kompost jest bardzo istotny. Powinno znajdować się ono blisko drogi lub w terenie, gdzie będzie łatwo gromadzić większe ilości materiałów organicznych z użyciem sprzętu mechanicznego. Należy wybierać miejsce zacienione i zabezpieczone przed silnym wiatrem, aby ograniczyć wysychanie kompostu i rozprzestrzenianie zapachów. Podłoże nie może być silnie przepuszczalne, tak aby „wycieki” z kompostu nie zanieczyszczały wód gruntowych, ale powinno zapewnić możliwość odpływu nadmiaru wilgoci z kompostu. Jednocześnie miejsce musi być usytuowane z dala od ujęć wody pitnej oraz stosowanej do podlewania roślin ze względu na możliwości skażenia źródeł wody mikroorganizmami chorobotwórczymi, znajdującymi się w kompostowanych materiałach.

Materiały do kompostowania powinny mieć różnorodną strukturę (grubsze mieszane z drobniejszymi) ze względu na zachowanie właściwych proporcji powietrza i wody w pryzmie, która nie może być zbita i mokra, ani zbyt luźna i przesuszona. Wilgotność powinna być utrzymywana na poziomie ok. 60%. Materiały o dużej zawartości węgla powinny być mieszane z materiałami o większej zawartości azotu w celu utrzymania właściwej proporcji węgla do azotu (C:N) w kompoście na poziomie 20-40:1. Odczyn w pryzmie powinien wynosić 6,0 – 8,0.

Formowanie pryzmy kompostowej. Wysokość i szerokość pryzmy jest uzależniona od wilgotności i porowatości materiału wyjściowego. Na przykład lekki i bardziej suchy materiał powinien być formowany w wyższe pryzmy, co będzie zapobiegało wysychaniu, a jednocześnie nie ma ryzyka wystąpienia warunków beztlenowych w pryzmie. Natomiast bardziej wilgotny materiał powinien być formowany w niższe pryzmy dla łatwiejszego napowietrzania. W większych pryzmach łatwiej uzyskać i utrzymać

wysoką temperaturę podczas aktywnej fazy termicznej kompostowania. Minimalna objętość pryzmy, żeby uzyskać i utrzymać fazę termiczną kompostowania, powinna wynosić 1 m³. Generalnie pryzmy kompostowe powinny mieć od 1 – 2,5 m wysokości i 3 – 4 m szerokości.

Przebieg procesu kompostowania. Glebowe bakterie, grzyby i pierwotniaki kolonizują materiał organiczny i inicjują proces kompostowania. Są to organizmy mezofilne, których działalność prowadzi do rozpadu łatwo rozkładalnych substancji. W wyniku tych reakcji, w ciągu 24 – 72 godzin wzrasta temperatura w pryzmie kompostowej. Rozpoczyna się faza termiczna kompostowania. Temperatura wewnątrz pryzmy powinna wzrosnąć do 60 – 70°C. Wtedy giną mikroorganizmy mezofilne, a w ich miejsce rozwijają się mikroorganizmy termofilne odpowiedzialne za dalszy rozkład.

To głównie w tej fazie kompostowania giną mikroorganizmy patogeniczne, w tym chorobotwórcze dla człowieka takie jak <i>Salmonella</i> lub <i>E. coli</i>.
--

Faza termiczna utrzymuje się od kilku do kilkunastu dni. W trakcie intensywnych procesów rozkładu zmniejsza się objętość masy kompostowej, kompost „osiada”, a także obniża się poziom tlenu w pryzmie. Dlatego w tym czasie należy dostarczyć tlenu dla wzmocnienia procesów tlenowych poprzez przemieszanie kompostu lub mechaniczne wtłoczenie powietrza do pryzmy. „Dotlenienie” kompostu sprzyja wznowieniu fazy termicznej i intensyfikuje rozkład, a także zmniejsza ryzyko przeżycia organizmów chorobotwórczych. Kilkukrotne mieszanie kompostu w czasie fazy termicznej jest również wskazane ze względu na przesunięcie do środka zewnętrznych warstw kompostu, nie poddanych działaniu wysokiej temperatury, dzięki czemu cały materiał przechodzi fazę termiczną.

Po fazie termicznej następuje stopniowy spadek temperatury. W niższej temperaturze giną organizmy termofilne, a ich miejsce zajmują ponownie organizmy mezofilne, które przetwarzają trudno rozkładające się składniki kompostów. Rozpoczyna się faza dojrzewania kompostu, która trwa od kilku do kilkunastu miesięcy. Na początku tej fazy kompost charakteryzuje się wysoką zawartością

kwasów organicznych, amoniaku, wąskim stosunkiem C:N, wysokim pH i zasoleniem. Te cechy są niekorzystne dla wzrostu roślin. Świeży, niedojrzały kompost może być toksyczny dla roślin. Mogą w nim przeżywać jeszcze organizmy chorobotwórcze, które giną w fazie dojrzewania. Dzieje się to w wyniku antagonizmu mikroorganizmów rozwijających się w dojrzewającym kompoście. Dlatego kompost należy zostawić na kilka miesięcy, w celu uzyskania pełnej stabilności lub stosować na długo przed wysiewem lub wysadzaniem roślin.

Błędy popełniane podczas kompostowania pogarszają stan sanitarny kompostu. Najważniejszym momentem podczas kompostowania jest wytworzenie wysokiej temperatury w pryzmie. Jednak gdy proces termiczny nie jest do końca przeprowadzony lub, gdy uzyska się zbyt niską temperaturę w pryzmie, mikroorganizmy chorobotwórcze mogą przeżyć, a kompostowany obornik może stanowić źródło skażenia gleby i roślin.

Brak napowietrzania pryzmy kompostowej, niewłaściwy stosunek C:N, pH mogą wpływać na zmniejszenie aktywności mikroorganizmów i efektywności kompostowania.

Zbyt mała pryzma może powodować powolny wzrost temperatury, która finalnie jest za niska, aby wyeliminować szkodliwe organizmy. Należy też zwrócić uwagę na wilgotność kompostu: w przesuszonym materiale procesy przebiegają niekompletnie i mniej intensywnie, dlatego należy kompost nawodnić. W zbyt wilgotnym kompoście następują reakcje beztlenowe, które nie prowadzą do właściwego rozkładu materii organicznej.

Zaniechanie mieszania pryzmy powoduje, że patogeny, które znajdują się w powierzchniowej warstwie, przeżywają i są źródłem skażenia.

Dodawanie świeżego obornika do kompostu, który przeszedł już fazę termiczną, powoduje jego wtórne skażenie.

Literatura

- Chitarra W., Decastelli L., Garibaldi A., Gullino M.L., 2014. Potential uptake of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* from growth substrate into leaves of salad plants and basil in soil irrigated with contaminated water. *Int. J. Food Microbiol.* 189: 139 – 145.
- Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Warszawa 2004.
- Kuś J., Jończyk K., 2005. Dobra Praktyka Rolnicza w gospodarstwie rolnym. Materiały szkoleniowe. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie Oddział w Radomiu.
- Matthews K.R., 2014. Leafy vegetables. W: The produce contamination problem. Causes and solutions. Ed.: GM Sapers, EB Solomon, KR Matthews: 187 – 206.
- Mukherjee A., Speh D., Diez-Gonzalez F., 2007. Association of farm management practices with risk of *Escherichia coli* contamination in pre-harvest produce grown in Minnesota and Wisconsin. *Int. J. Food Microbiol.* 120: 296 – 302.
- Risk profile on the microbiological contamination of fruits and vegetables eaten raw. Report of the Scientific Committee on Food, SCF/CS/FHM/SURF/Final, 29 April 2002: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html.
- Dz. U. nr 73, poz. 657. Rozporządzenie Rady Ministrów z dnia 14 kwietnia 2004 r. w sprawie szczególnych warunków i trybu udzielania pomocy finansowej na wspieranie działalności rolniczej na obszarach o niekorzystnych warunkach gospodarowania objętej planem rozwoju obszarów wiejskich.
- Sagoo S.K., Little C.L., Ward L., Gillespie I.A., Mitchell R.T., 2003. Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of Salmonellosis. *J. Food Protect.* 66: 403 – 409.
- Simone A., Treadwell D., 2008. Minimizing food safety hazards for organic growers. Document FCS8872, <http://edis.ifas.ufl.edu>

Część 5

MIKOTOKSYNY W PRODUKTACH ROŚLINNYCH

Justyna Szwejdą-Grzybowska, Ryszard Kosson, Magdalena Tuszyńska

Wstęp

Termin „mikotoksyny” pochodzi od słów: greckiego „mycos” - grzyb oraz łacińskiego „toxicum” - trucizna.

Mikotoksynami określa się toksyczne substancje chemiczne wytwarzane przez pewne gatunki grzybów pleśniowych rozwijających się m.in. na produktach żywnościowych i surowcach wykorzystywanych do ich produkcji.

Mikotoksyny są metabolitami wtórnymi grzybów, jednak ich rola w procesie wzrostu grzybni nie została poznana. Ta sama toksyna może być produkowana przez kilka różnych gatunków grzybów. Na wytwarzanie mikotoksyn wpływają specyficzne czynniki środowiskowe, takie jak niedobory lub obecność któregoś z istotnych składników odżywczych w podłożu czy obecność w danym miejscu innych konkurencyjnych gatunków grzybów pleśniowych lub bakterii. Zaobserwowano, że niektóre mikotoksyny są wytwarzane, gdy grzyby poddawane są stresowi termicznemu lub chemicznemu, a także gdy znajdują się w warunkach nieodpowiednich dla danego gatunku.

Ze względu na różnorodne efekty toksyczne i wysoką odporność na działanie temperatury, obecność mikotoksyn w żywności stanowi potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Warzywa mogą ulegać zanieczyszczeniu na różnych etapach, począwszy od rozwoju rośliny na polu, poprzez zbiór, jak też w trakcie obróbki, przechowywania i transportu. Rozwój tych grzybów nie zawsze jest widoczny. Czasem produkty bez wyraźnych objawów pleśnienia mogą zawierać mikotoksyny. Dlatego tak ważna jest kontrola jakości żywności.

Rodzaje mikotoksyn i ich występowanie

Obecnie poznanych jest około czterystu metabolitów grzybów i ich pochodnych, które zaklasyfikowano do mikotoksyn. Podzielono je na sześć grup różniących się sposobem oddziaływania na organizmy wyższe: aflatoksyny, ochratoksyna A, patulina, fumonizyny, deoksyniwalenol (trichoteceny) i zearalenon. Jako pierwsze zidentyfikowano aflatoksyny i jak dotąd są one najlepiej poznane. Jednak niedawno w Europie odkryto nowe mikotoksyny.

Tab.1. Najważniejsze gatunki grzybów oznaczonych jako toksynotwórcze i wytwarzane przez nie mikotoksyny.

Rodzaj lub gatunek grzyba	Wytwarzane mikotoksyny
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i>	aflatoksyna B ₁ , G ₁ , G ₂ , M ₁ , ochratoksyna A, sterigamtocystyna
<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus carbonarius</i>	ochratoksyna A, cytrynina, patulina, penitrem A
<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium verticillioides</i> (moniliforme), <i>Fusarium proliferatum</i>	trichoteceny (deoksyniwalenol, niwalenol, toksyna T-2, toksyna HT-2), zearalenon, fumonizyny B ₁ , i jej pochodne B ₂ i B ₃ , moniliformina
<i>Alternaria</i>	kwasy tenauzonowe, alternariol
<i>Claviceps</i>	ergotalkaloidy

Aflatoksyny są pochodną difuranokumaryny i wytwarzane są przez pewne gatunki grzybów z rodzaju *Aspergillus*. Występują na wielu produktach, takich jak: zboża, owoce liofilizowane, przyprawy, owoce suszone, orzechy, śruty roślin oleistych, na kukurydzy. Spośród około 20 zidentyfikowanych aflatoksyn jedynie cztery występują w produktach spożywczych (aflatoksyny: B₁, B₂, G₁ i G₂). Pochodne aflatoksyn można znaleźć także w mleku i jego

przetworach (aflatoksyny M_1 i M_2). Kumulowane są w organizmach zwierząt karmionych skażoną paszą.

Ochratoksyna A (OTA) jest wytwarzana przez *Penicillium verucosum* (w klimacie umiarkowanym i chłodnym) oraz niektóre gatunki *Aspergillus* (w cieplejszych i tropikalnych rejonach świata). Uważa się, że ochratoksyna A jest głównym czynnikiem powodującym zanieczyszczenie żywności i pasz. Mikotoksyna ta wykrywana jest najczęściej w surowcach źle wysuszonych oraz składowanych w nieodpowiednich warunkach termicznych i wilgotnościowych. Oprócz zbóż ochratoksyna A może występować w wielu innych produktach spożywczych. Wykrywano ją w nasionach soi, fasoli, ciecierzycy, ziarnach surowej kawy, ziarnach kakao, winie, soku z winogron, piwie, przyprawach, przetworach mięsnych oraz suszonych owocach.

Fumonizyny są wytwarzane przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, które rozwijają się głównie w ziarnie kukurydzy i jego przetworach, przeznaczonych na cele spożywcze i paszowe. Jest to grupa około 15 mikotoksyn, jednak największe znaczenie ma fumonizyna B1.

Zearalenon (ZEA) jest również wytwarzany przez grzyby z rodzaju *Fusarium* w warunkach niskich temperatur i dużej wilgotności. Jest to mikotoksyna zanieczyszczająca przede wszystkim ziarno zbóż.

Deoksyniwalenol (DON) jest jednym ze 150 komponentów grupy trichotecenów. Niemal zawsze wytwarzany jest na roślinach przed zbiorem. Produkcja tej toksyny związana jest jednak z warunkami klimatycznymi, dlatego też może być różna w zależności od regionu i roku uprawy.

Patulina jest toksycznym metabolitem wtórnym niektórych gatunków grzybów, zarówno z rodzaju *Aspergillus* jak i *Penicillium*. W warunkach naturalnych patulinę najczęściej wykrywa się w jabłkach i sokach jabłkowych, w mniejszym stopniu w pomidorach i owocach takich jak: banany, ananasy, winogrona, brzoskwinie i morele.

Występowanie mikotoksyn w warzywach

Zmiany stylu życia i żywienia powodują, że zwiększa się spożycie warzyw i owoców surowych i przetworzonych. Mało jest danych na temat występowania mikotoksyn w warzywach i potencjalnego zagrożenia wynikającego ze skażenia tych produktów. Dotychczas badaniami i kontrolą jakości objęte były głównie zboża, pasze, zioła, orzechy i inne produkty składowane w dużych ilościach. W trakcie przechowywania tych produktów mogą wystąpić warunki sprzyjające rozwojowi grzybów toksyno-twórczych.

Jednak w ostatnich latach dużo zaczyna się mówić na temat zagrożenia mikotoksynami występującymi również w innych produktach, w tym spożywczych jak przetwory mleczne i warzywa.

Szczególnie, że wzrasta popyt na produkty ekologiczne, które nie poddane działaniu środków chemicznych mogą stanowić dogodne środowisko do rozwoju grzybów. Tym bardziej, że obecność grzybów toksyno-twórczych nie zawsze jest widoczna i czasem produkty bez wyraźnych objawów pleśnienia mogą zawierać mikotoksyny.

W dotychczas przeprowadzonych badaniach dotyczących zanieczyszczenia marchwi, buraków ćwikłowych i ziemniaków sprzedawanych w wolnym handlu wykazano duże zróżnicowanie w liczebności grzybów mikroskopowych. Wśród wyizolowanych gatunków grzybów stwierdzono obecność aż 11 potencjalnie toksyno-twórczych. Skład gatunkowych grzybów na tych warzywach przedstawiono w tabeli 2.

W badaniach prowadzonych w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach (patrz część 1 tego opracowania) stwierdzono istotny wzrost zawartości takich mikotoksyn jak ochratoksyna A i aflatoksyna w warzywach przechowywanych w sezonie zimowym (burak, marchew).

Zwiększenie stężenia toksyn następowało pomimo, iż nie obserwowano wyraźnych objawów wzrostu grzybów strzępkowych na badanych korzeniach. Nie stwierdzono natomiast różnic w

zawartości tych substancji pomiędzy warzywami z upraw konwencyjnych i ekologicznych z wyjątkiem kukurydzy.

Tab. 2. Gatunki grzybów potencjalnie toksyno-twórczych wyizolowane z warzyw okopowych (wg Bis i in. 2010).

Gatunek grzyba	Gatunek warzywa		
	marchew	burak ćwikłowy	ziemniak
<i>Alternaria alternata</i>			+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+		+
<i>Aspergillus versicolor</i>			+
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+		+
<i>Cladosporium macrocarpum</i>	+	+	
<i>Fusarium graminearum</i>		+	+
<i>Fusarium moniliforme</i>		+	
<i>Helminthosporium velutinum</i>	+		
<i>Penicillium citrinum</i>	+		+
<i>Penicillium rugulosum</i>	+	+	
<i>Penicillium tardum</i>	+	+	

Działanie toksyczne mikotoksyn

Szkodliwy wpływ mikotoksyn na zdrowie ludzi i zwierząt jest zróżnicowany, w niektórych przypadkach mało poznany, zwłaszcza w odniesieniu do człowieka, ponieważ trudno jest prowadzić badania na ludziach. Toksyczność mikotoksyn zależy głównie od charakteru danej cząsteczki, częstotliwości ekspozycji oraz pochłoniętej dawki. W tabeli 3 przedstawiono działanie mikotoksyn na organizm ludzki.

Normy dla dopuszczalnych zawartości mikotoksyn

Aktualnie obowiązującym w Polsce aktem prawnym (od 1 marca 2007 roku) w zakresie zanieczyszczenia środków spożywczych w tym ziaren zbóż i nasion roślin uprawnych mikotoksynami jest Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 roku, ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych Zanieczyszczeń w środkach spożywczych (Dz. Urz. WE L 364 z 20.12.2006).

Tab.3. Działanie toksyczne mikotoksyn.

Mikotoksyny	Objawy mikotoksykozy	Przykładowe dawki LD 50
Aflatoksyny	uszkodzenia wątroby, nerek, centralnego układu nerwowego nowotwory np. wątroby, nerek, okrężnicy, żołądka, języka	śmiertelność zarodków jaj 0,025 mg/zarodek i drobiu 0,25 mg/kg paszy
Ochratoksyna A	nefropatia, uszkodzenia funkcji nerek, upośledzenie systemu rozrodczego	uszkodzenia nerek trzody po kilku dniach przy zawart. 4mg/kg w paszy
Deoksyniwalenol	utrata łaknienia, wymioty	mniejsze łaknienie przy zawart. >2mg/kg paszy, wymioty u trzody przy zawart. 20mg/kg paszy
Zearalenon	hyperestrogenizm (syndrom estrogeniczny), działanie hormonalne, zaburzenia płodności	uszkodzenie organów rozrodczych u osobn. żeńskich i męskich przy zawart. w paszy >1mg/kg
Fumonizyny	obrzęki płuc, uszkodzenie wątroby, nowotwory wątroby, uszkodzenie mózgu	uszkadza szlak biosyntezy sfingozyny-składnika mózgu
Patulina	zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych, hamuje diurezę, uszkodzenie wątroby	-

Tab.4. Normy przedstawiające dopuszczalne poziomy występowania zanieczyszczeń mikotoksynami wybranych produktów na podstawie Rozporządzenia Komisji (WE) Nr 1881/2006.

Mikotoksyna	Produkt	Dopuszczalny poziom (µg/kg)
Aflatoksyna B ₁	wszystkie zboża oraz	
	produkty ze zbóż	2,0
	kukurydza	5,0
	orzeszki ziemne	
	i suszone owoce	5,0
	żywność dla dzieci	0,1
Aflatoksyny B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	wszystkie zboża oraz	
	produkty ze zbóż	4,0
	kukurydza	10,0
	orzeszki ziemne i	
	suszone owoce	10,0
	żywność dla dzieci	0,50
Ochratoksyna A	nieprzetworzone zboża	5,0
	produkty pochodzące z nieprzetworzonych zbóż	3,0
Deoksyniwalenol	nieprzetworzone zboża	1250
	nieprzetworzona pszenica durum, owies	1750
	nieprzetworzona kukurydza	1750
Zearalenon	nieprzetworzone zboża	100
	nieprzetworzona kukurydza	200
Fumonizyny	nieprzetworzona kukurydza	2000

Treść ustawy mówi o dopuszczalnych zawartościach mikotoksyn w produktach spożywczych pochodzenia roślinnego (ziarno zbóż, mąki, kasze, produkty sypkie z kukurydzy, oleje, pieczywo, soki, przyprawy), a także zwierzęcego (mleko, mięso, jaja). Rozporządzenie zwraca uwagę na najbardziej szkodliwe dla zdrowia ludzi oraz zwierząt mikotoksyny: aflatoksyny, ochratokyna A, deoksyniwalenol, zearalenon, fumonizyny, patulina (tab. 4).

Zapobieganie skażeniom produktów przez mikotoksyny

Jednym ze sposobów zmniejszania ryzyka zatrucia mikotoksynami może być dostatecznie wczesne wykrycie skażonych produktów i użycie ich do celów innych niż konsumpcyjne. Zanieczyszczone plony mają jednak mniejszą wartość, co dla rolnika oznacza niższe dochody. Należy zatem opracować strategie zapobiegania infekcjom, korzystne dla zdrowia konsumentów i opłacalności produkcji, również w skali kraju.

Poznanie czynników ekologicznych sprzyjających infekcji i w efekcie produkcji toksyn jest podstawowym warunkiem dla opracowania efektywnych strategii redukcji poziomu mikotoksyn w produktach rolnych.

Termin „strategia zapobiegawcza” stosuje się do wszelkich zabiegów przeciwdziałających skażeniu mikotoksynami zbóż w polu (przed zbiorem) i w magazynach (po zbiorze). Szereg takich strategii zapobiegawczych już się stosuje, inne są w trakcie badań. Przed zbiorem należy zapewnić uprawom dobre warunki ekologiczne (odpowiednie nawodnienie, nawożenie itd.), a unikać takich, które sprzyjają infekcjom grzybowym. Na polu nie powinno się pozostawiać resztek zainfekowanych roślin. Niszczenie tych resztek ogranicza ryzyko porażenia kolejnych upraw lub innych roślin. Zgodnie z zaleceniami trzeba stosować zabiegi chemiczne zapobiegające pojawieniu się pleśni. Po zbiorze powinno się zwrócić uwagę na częste czyszczenie pomieszczeń magazynowych, a także na dezynfekcję kontenerów do przechowywania. Bardzo ważne jest, aby produkty były przechowywane w warunkach odpowiedniej temperatury i wilgotności powietrza.

Literatura

- Bis H., Frączek K., Mędreła-Kuder E., 2010. Produkcja mikotoksyn przez grzyby wyizolowane z warzyw okopowych. *Nauka Przyroda Technologie*, 4: 6.
- Chełkowski J., 2010. Mikotoksyny, grzyby toksynotwórcze i mikotoksykozy. Wersja on-line: www.cropnet.pl/mycotoxin.
- Czerwiecki L., 1997. Mikotoksyny w żywności jako czynnik zagrożenia zdrowotnego. *Żywność, Żywnienie a Zdrowie*, 4: 293-300.
- Dahm H., Redlak K., 2001. Mikotoksyny. W: *Drobnoustroje środowiska glebowego, aspekty fizjologiczne, biochemiczne, genetyczne*. Wyd. Adam Marszałek, Toruń: 25-36.
- Goliński P., 2002. Ochratoksyna A i inne mikotoksyny nadal obecne w krajowych zbożach. *Przeg. Zbożowo-Młynarski*, 2:15-18.
- Grochowalski A., 2004. Sample pretreatment methods for the determination of mycotoxins and other hazardous substances (dioxin). In food and feeding material using gas chromatography and double fragmentation mass spectrometry GC-MS/MS. IV Międzynarodowa Konferencja Naukowa, Olsztyn: 45.
- Kłyszajko A., Kubus A., Żakowska Z., 2005. Mycological analysis of cereal samples and screening of *Fusarium* strains ability to form deoxynivalenole [DON] and zearalenone [ZEA] mycotoxins - a pilot study. *Polish Journal of Microbiology*, 54: 21-25.
- Korbas M., Horoszkiewicz-Janka J., 2007. Znaczenie i możliwości ograniczenia szkodliwych metabolitów pochodzenia grzybowego. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, 47 (2): 141-148.
- Pittet A., 2005. Naturalne występowanie mikotoksyn w żywności i paszach – nowe dane. Wyd. Natura, 12: 1.
- Pittet A., 1998. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an updated review. *Rev. Med. Vet.*, 149 (6): 479-492.
- Placinta C., D'Mello J., Macdonald A., 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, 78: 21-37.
- ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (WE) NR 1881/2006z dnia 19 grudnia 2006 r. L3645-24.

- Schrödter R., 2004. Influence of harvest and storage conditions on trichothecenes levels in various cereals. *Toxic. Lett.*, 153: 47–49.
- Szymczyk K., Szteke B., Goszcz H., 2004. Występowanie patuliny w krajowych sokach jabłkowych. *Roczniki PZH*, 3: 255-260.