

EWA KRYSIŃSKA-TRACZYK¹, GRAŻYNA CHOLEWA¹,
JULIUSZ PERKOWSKI²

GRZYBY PLEŚNIOWE I MIKOTOKSYNY
JAKO CZYNNIKI ZAGROŻENIA ZDROWIA
ROLNIKÓW WYKONUJĄCYCH OMŁOTY RZEPAKU

*FILAMENTOUS FUNGI AND MYCOTOXINS AS HEALTH
RISK FACTORS IN FARMERS ENGAGED
IN RAPE CORN THRESHING*

*ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ И МИКОТОКСИНЫ,
КАК ФАКТОРЫ УГРОЗЫ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ
ФЕРМЕРОВ ВЫПОЛНЯЮЩИХ ОБМОЛОТ РАПСА*

*ПЛІСНЕВІ ГРИБИ І МІКОТОКСИНИ,
ЯК ЧИННИКИ ЗАГРОЗИ ДЛЯ ЗДОРОВ'Я
ФЕРМЕРІВ ЯКІ ВИКОНУЮТЬ ОБМОЛОТ РІПАКУ*

¹ Z Zakładu Biologicznych Szkodliwości Zawodowych
Instytutu Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie
Kierownik Zakładu: Prof. dr hab. J. Dutkiewicz
Dyrektor Instytutu: Prof. dr hab. n. med. L. Wdowiak

² i z Katedry Chemii Akademii Rolniczej w Poznaniu
Kierownik Katedry: Prof. dr hab. P. Goliński

W artykule przedstawiono wyniki badań dotyczące stężenia grzybów pleśniowych i ich metabolitów (mikotoksyn) w ziarnie rzepaku i pyłach występującym podczas omłotów rzepaku w gospodarstwach rolników indywidualnych.

SŁOWA KLUCZOWE : grzyby pleśniowe, ziarno rzepaku, choroby alergiczne, pyły organiczne, mikotoksyny.

KEY WORDS: *filamentous fungi, rape corn, allergic diseases, organic dust, mycotoxins.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *плесневые грибы, зерно рапса, аллергические болезни, органическая пыль, микотоксины.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: *плісняві гриби, зерно ріпаку, алергічні хвороби, органічний пил, мікотоксини.*

W rolniczym środowisku pracy występuje znaczne zanieczyszczenie powietrza pyłami organicznymi. Pyły te uwalniają się do atmosfery podczas wykonywania różnych czynności, takich jak: zbiór, omłoty i magazynowanie zbóż, czyszczenie ziół, turbinowanie lnu, karmienie zwierząt paszami. Znaczną część komponenty biologicznej tych pyłów stanowią grzyby pleśniowe należące do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus* i *Fusarium* [1, 2, 3]. Wdychanie pyłów pochodzenia roślinnego podczas wykonywania prac rolniczych może być

przyczyną chorób o charakterze alergicznym, immunotoksycznym i mikotoksycznym, do których należy astma oskrzelowa, alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (*alveolitis allergica*), syndrom toksyczny wywołany pyłem organicznym (*organic dust toxic syndrome*) oraz choroby zwane mikotoksykozami, wywołane wdychaniem pyłu organicznego zawierającego mikotoksyny [4, 5, 6, 8, 9, 10].

CELE BADANIA

Celem badań było określenie stężenia grzybów pleśniowych i ich metabolitów (mikotoksyn) w ziarnie rzepaku i pyłe powstającym podczas omłotów rzepaku – w aspekcie potencjalnego zagrożenia zdrowia rolników indywidualnych.

MATERIAŁ I METODY

Do badań pobrano próby ziarna rzepaku i pyłu powstające podczas omłotów rzepaku w gospodarstwach rolników indywidualnych. Próby posiano metodą rozcieńczeń płytkowych (od 10^{-2} do 10^{-10}) na płytki *Petrie*go z agarem ziemniaczanym (PDA agar). Płytki inkubowano przez 7 dni w temperaturze 25°C , po czym określono stężenie grzybów pleśniowych, wyrażając je w jednostkach cfu/g badanej próby (cfu = *colony forming units*). W stadium końcowym dokonano identyfikacji poszczególnych gatunków i rodzajów grzybów pleśniowych, według metod stosowanych w mikologii [7, 11].

Stężenie mikotoksyn określono przy użyciu metod chromatografii cienkowarstwowej (TLC) i wysokorozdzielczej chromatografii cienkowarstwowej (HPTLC). Wyniki uzyskane przy zastosowaniu chromatografii cienkowarstwowej potwierdzono przy zastosowaniu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem masowym, GC/MS.

WYNIKI BADAŃ

W próbach ziarna rzepaku pobranych podczas omłotów stężenie grzybów pleśniowych było w granicach $5,0 \times 10^2 - 1,7 \times 10^6$ cfu/g. Zidentyfikowano grzyby pleśniowe należące do gatunków *Penicillium citrinum*, *Aspergillus candidus*, *Cladosporium cladosporioides* i *Alternaria alternata*. Dominującą mikoflorę stanowiły gatunki *Penicillium citrinum*, *Aspergillus candidus* i *Cladosporium cladosporioides*, często występujące w powietrzu podczas wykonywania prac polowych [Tab. I].

Stężenie grzybów pleśniowych w próbach pyłu z rzepaku pobranych podczas omłotów było wyższe, niż w próbach ziarna, w granicach $4,5 \times 10^7 - 5,5 \times 10^8$ cfu/g. Stwierdzono obecność grzybów pleśniowych, znanych z właściwości alergizujących, takich jak: *Cladosporium herbarum*, *Geotrichum candidum*, *Mucor mucedo*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus oligosporus*. W pyłe z rzepaku występowały również grzyby pleśniowe wytwarzające mikotoksyny, należące do gatunków *Fusarium poae*, *Penicillium citrinum* i *Aspergillus fumigatus* [Tab. II].

Przy zastosowaniu metod chromatograficznych, określono stężenie trzech mikotoksyn: ochratoksyny A, deoksyniwalenolu i niwalenolu. Stwierdzono

obecność ochratoksyny A w kilku próbach ziarna rzepaku i pyłu z rzepaku. Stężenie ochratoksyny było wyższe w próbach pyłu z rzepaku, niż w próbach ziarna, odpowiednio w granicach 0,0015 – 0,0098 µg/g i 0,0004 – 0,0007 µg/g. Nie stwierdzono deoksyniwalenolu i niwalenolu.

Tabela I. Mikoflora ziarna rzepaku pobranego podczas omlotów w gospodarstwach rolników indywidualnych.

Table I. Mycoflora of rape grain sampled during threshing on private farms.

Таблица I. Микрофлора зерна рапса собранного во время обмолов в хозяйствах индивидуальных фермеров.

Таблиця I. Мікрофлора зерна ріпаку зібраного під час обмоловів в господарствах індивідуальних фермерів.

Numer próby	Mikoflora ziarna (tys. cfu/g)	Skład mikoflory ziarna rzepaku (%)			
		<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Aspergillus candidus</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Alternaria alternata</i>
1	1,5 x 10 ⁴			100,0	
2	1,5 x 10 ⁴		100,0		
3	1,7 x 10 ⁶	91,2	2,9	2,9	3,0
4	2,0 x 10 ³	25,0	25,0		50,0
5	0				
6	5,0 x 10 ²	100,0			

Tabela II. Mikroflora pyłu z gziepaku pobranego podczas omłotów w gospodarstwach rolników indywidualnych.

Table II. Microflora of rape dust sampled during threshing on private farms.

Таблица II. Микрофлора пыли рапса собранного во время обмолаотов в хозяйствах индивидуальных фермеров.

Таблиця II. Микрофлора пилу ріпаку зібраного під час обмолаотів в господарствах індивідуальних фермерів.

Nr próby	Mikofora pyłu (tys. cfu/g)	Skład mikroflory pyłu z gziepaku (%)									
		<i>Fusarium poae</i>	<i>Claosporium herbarum</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Sclerotium sclerotiorum</i>	<i>Mucor mucedo</i>	<i>Oidiodendron flavum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Rhizopus oligosporus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
1	$1,5 \times 10^8$	3,3	60,0	3,3	3,3	12,3	1,0	6,6	10,2		
2	$5,5 \times 10^8$		27,2						9,1	54,6	9,1
3	$1,4 \times 10^8$	3,5	20,7		41,4	10,3			24,1		
4	$4,5 \times 10^7$		22,2			66,7			11,1		
5	$3,5 \times 10^8$		28,6			71,4					
6	$4,5 \times 10^8$		55,5		22,2				22,3		

Tabela III. Stężenie mikotoksyn w próbach ziarna i pyłu z rzepaku pobranych podczas omlotów w gospodarstwach rolników indywidualnych.

Table III. Concentration of mycotoxins in the samples of rape grain and dust taken during threshing on private farms.

Таблица III. Концентрация микотоксин в образцах зерна и пыли репса, собранных во время обмолов в хозяйствах индивидуальных фермеров.

Таблиця III. Концентрація мікотоксин в зразках зерна і пилу ріпаку, зібраних під час обмоловів в господарствах індивідуальних фермерів.

Rodzaj i nr. próby	Ochratoksyna A (OTA) μg/g	Deoksyniwalenol (DON) μg/g	Niwalenol (NIV) μg/g
Ziarno rzepaku			
1	0,0006	0,0	0,0
2	0,0007	0,0	0,0
3	0,0	0,0	0,0
4	0,0	0,0	0,0
5	0,0006	0,0	0,0
6	0,0004	0,0	0,0
Pył z rzepaku			
1	0,0028	0,0	0,0
2	0,0031	0,0	0,0
3	0,0	0,0	0,0
4	0,0	0,0	0,0
5	0,0015	0,0	0,0
6	0,0098	0,0	0,0

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Całość badań wskazuje na znaczny stopień narażenia zawodowego rolników pracujących przy omlotach rzepaku, spowodowany wdychaniem pyłu zanieczyszczonego chorobotwórczymi gatunkami grzybów pleśniowych. Stwierdzone w tych badaniach grzyby pleśniowe z gatunków *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium citrinum*, *Mucor mucedo*, *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus fumigatus* mogą być czynnikami etiologicznymi astmy oskrzelowej, alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych i syndromu toksycznego wywołanego pyłem organicznym [1, 2, 3, 4, 6, 8]. W ziarnie i pyle z rzepaku stwierdzono również obecność ochratoksyny A, mikotoksyny o właściwościach toksycznych, będącej produktem metabolizmu grzybów pleśniowych z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*.

Wyniki badań wskazują na znaczny stopień zagrożenia zdrowia rolników wykonujących omloty rzepaku, spowodowany wdychaniem wielu gatunków grzybów pleśniowych o właściwościach alergizujących, immunotoksycznych i mikotoksycznych. W zapobieganiu skutkom narażenia na chorobotwórcze grzyby pleśniowe i mikotoksyny, należy informować rolników o środkach profilaktycznych, polegających na używaniu lekkich półmasek podczas omlotów rzepaku.

WNIOSKI

1. W próbach ziarna i pyłu z rzepaku pobranych podczas omłotów stwierdzono występowanie wielu gatunków grzybów pleśniowych, znanych jako czynniki etiologiczne alergicznych i immunotoksycznych chorób układu oddechowego. W próbach pyłu omłotowego z rzepaku stężenie grzybów pleśniowych było duże, wynosiło $5,5 \times 10^8$ cfu/g. Tak duże stężenie mogło spowodować objawy alergicznych chorób układu oddechowego u rolników wykonujących omłoty rzepaku
2. W próbach ziarna i pyłu z rzepaku stwierdzono występowanie ochratoksyny A, znanej jako czynnik etiologiczny "bałkańskiej endemicznej nefropatii". Obecność ochratoksyny A w ziarnie i pyłe z rzepaku była obok wielu innych biologicznych czynników szkodliwych – dodatkowym czynnikiem zagrożenia zdrowia rolników indywidualnych.
3. Całość badań wskazuje na znaczny stopień zagrożenia zdrowia rolników indywidualnych, wywołany wdychaniem podczas omłotów rzepaku alergizujących, immunotoksycznych i mikotoksycznych grzybów pleśniowych.

E. Krysińska-Traczyk, G. Cholewa, J. Perkowski

FILAMENTOUS FUNGI AND MYCOTOXINS AS HEALTH RISK FACTORS IN
FARMERS ENGAGED IN RAPE CORN THRESHING

Summary

The objective of the study was determination of the level and species composition of filamentous fungi and the concentration of mycotoxins in rape grain and dust produced during the threshing – from the aspect of potential health risk for private farmers. The study materials were samples of rape grain and dust taken during threshing on private farms. The concentration of filamentous fungi in the samples of rape grain and dust was determined by the method of patch testing with serial dilutions, while the concentration of mycotoxins – with the use of thin layer chromatography (TLC), and high performance thin layer chromatography method (HPTLC). Species composition of filamentous fungi was determined in the grain and dust of rape. In the samples of rape grain and dust taken during threshing the presence of many species of filamentous fungi was observed, known as etiologic factors of allergic, immunotoxic and mycotoxic respiratory diseases. During threshing, the rape dust concentration of filamentous fungi was high – 5.5×10^8 cfu/g, and constituted a potential health risk factor for farmers engaged in rape threshing. In rape grain and dust the presence of ochratoxin A was also noted, known as an etiologic factor of Balkan endemic nephropathy – a chronic renal disease. The study showed that farmers working in the environment contaminated with organic dust produced during rape threshing are exposed to inhalation of dust polluted with many species of filamentous fungi, which creates the risk of occurrence of allergic, immunotoxic and mycotoxic diseases of the respiratory system.

Е. Крысиньска-Трачик, Г. Холева, Ю. Перковски

ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ И МИКОТОКСИНЫ, КАК ФАКТОРЫ УГРОЗЫ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ
ФЕРМЕРОВ ВЫПОЛНЯЮЩИХ ОБМОЛОТ РАПСА

Аннотация

Целью исследований было определение концентрации и качественного состава плесневых грибов, а также концентрации микотоксин в зерне рапса и пыли, возникающей во время обмолов, в аспекте потенциальной угрозы для здоровья фермеров. Материалом для исследований послужили образцы зерна и пыли из рапса, полученного во время обмолов в хозяйствах индивидуальных фермеров. Концентрация плесневых грибов в образцах зерна и пыли из рапса обозначено методом пластиночного разделения, концентрация микотоксин при использовании методов тонкослойной хроматографии (ТСХ), а также высокоразрешающей тонкослойной хроматографии (НРТЛС). В образцах зерна и пыли из рапса определен качественный состав плесневых грибов. Подтверждено наличие большого количества сортов плесневых грибов, известных как этиологические факторы аллергических, иммунотоксических и микотоксических болезней дыхательных путей. В пыли рапса концентрация плесневых грибов была высокая и составила $5,5 \times 10^8$ CFU/g, что является потенциальным фактором угрозы для здоровья фермеров, работающих при обмолах рапса. В зерне и пыли рапса подтверждено также наличие охратоксины А, известной как фактор этиологической балканской эндемической нефропатии - хронической болезни почек. Во время исследований подтверждено, что фермеры, работающие в среде, загрязненной органической пылью, возникающей во время обмолов рапса, подвергаются воздействию пыли, загрязненной многими видами патогенных плесневых грибов, что создает риск появления у них аллергических, иммунотоксических и микотоксических болезней дыхательных путей.

Е. Крисиньска-Трачик, Г. Холева, Ю. Перковски

ПЛІСНЕВІ ГРИБИ І МІКОТОКСИНИ ЯК ЧИННИКИ ЗАГРОЗИ ДЛЯ ЗДОРОВ'Я ФЕРМЕРІВ
ЯКІ ВИКОНУЮТЬ ОБМОЛОТ РІПАКУ

Анотація

Метою досліджень було визначення концентрації і якісний склад пліснявих грибів, а також концентрацію микотоксинів у зерні ріпаку і пилу, яке виникає під час обмолов, в аспекті потенційної загрози для здоров'я фермерів. Матеріалом для досліджень використовувались зразки зерна і пилу з ріпаку, отриманого під час обмолов в індивідуальних господарствах фермерів. Концентрація пліснявих грибів у зразках зерна і пилу з ріпаку позначено методом пластичного розділення, концентрація микотоксинів при використанні методів тонкошарової хроматографії (ТШХ), а також високороздільній тонкошаровій хроматографії (НРТЛС). У зразках зерна і пилу з ріпаку визначений якісний склад пліснявих грибів. Підтверджена наявність великої кількості сортів пліснявих грибів, відомих як етіологічні чинники алергічних, імунотоксичних та микотоксичних хвороб дихальних шляхів. У пилу ріпаку концентрація пліснявих грибів була висока і складала $5,5 \times 10^8$ CFU/g. Це є потенційним чинником загрози для здоров'я фермерів, які працюють при обмолах ріпаку. У зерні і пилу ріпаку підтверджена також наявність охратоксинів А, відомих як чинників етіологічної балканської ендемічної нефропатії - хронічної хвороби нирок. Під час досліджень підтверджено, що фермери, які працюють в середовищі, забрудненим органічним пилом, який виникає під час обмолов ріпаку, піддаються під дію пилу, забрудненого багатьма видами патогенних пліснявих грибів, що створює ризик появи у них алергічних імунотоксичних та микотоксичних хвороб дихальних шляхів.

PIŚMIENNICTWO

1. Krysińska-Traczyk E., Dutkiewicz J., Skórska C.: Narażenie zawodowe rolników indywidualnych na bioaerozole występujące w pyłach z ziela tymianku. *Med. Ogólna*, 1999, 5, 186-192.
2. Krysińska-Traczyk E., Skórska C., Prażmo Z.: Bioaerozole jako potencjalne czynniki zagrożenia zdrowotnego rolników indywidualnych pracujących przy omlotach zbóż. *Med. Ogólna*, 1999, 5, 301-306.
3. Krysińska-Traczyk E., Dutkiewicz J.: *Aspergillus candidus*: a respiratory hazard associated with grain dust. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2000, 7, 101-109.
4. Krysińska-Traczyk E., Kiecana I., Perkowski J.: Levels of fungi and mycotoxins in samples of grain and grain dust collected on farms in Eastern Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2001, 8, 269-274.
5. Krysińska-Traczyk E., Perkowski J.: Potencjalne zagrożenia zdrowotne rolniczego środowiska pracy wywołane grzybami pleśniowymi i mikotoksynami. V Kraj. Konfer. PTMS 2002, 28-29.
6. Krysińska-Traczyk E., Perkowski J., Kostecki M.: Grzyby pleśniowe i mikotoksyny jako potencjalne czynniki zagrożenia zawodowego rolników sprzątających zboże kombajnami. *Med. Pracy*, 2003, 54, 33-38.
7. Litwinow M.A.: *Opredielitel Mikroskopicheskikh Poczwiennnych Gribow*. Izd. Nauka, Leningrad 1967.
8. Mackiewicz B., Skórska C., Dutkiewicz J.: Allergic alveolitis due to herb dust exposure. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 1999, 6, 167-170.
9. *Mikotoksyny. Raport Ekspertów Światowej Organizacji Zdrowia*. PZWL, Warszawa 1984.
10. Sychalski L., Dutkiewicz J., Umiński J.: Przypadki zbiorowych zachorowań młodzieży na skutek pracy ze zbożem. *Med. Wiejska*, 1981, 3-4, 205-216.
11. Thom C., Raper K.B.: *A manual of the Aspergilli*. Williams - Wilkins, Baltimore 1945.

Data otrzymania: 21.07.2008.

Adres Autorów: 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 2, Zakład Biologicznych Szkodliwości Zawodowych IMW.