PROGRESS IN PLANT PROTECTION

eISSN 2084-4883

Received: 04.09.2025 / Accepted: 24.11.2025

DOI: 10.14199/ppp-2025-031
Published online: 18.12.2025

ARTYKUŁ ORYGINALNY

Wpływ wybranych substancji podstawowych i ozonowania nasion na redukcję mykotoksyn w ziarnie pszenicy jarej

Effect of selected basic substances and seed ozonation on reduction of mycotoxins in spring wheat grain

Rafał Konecki*

Streszczenie

Celem badań było określenie potencjału substancji podstawowych (octu winnego, chlorowodorku chitozanu i nasion gorczycy w proszku) oraz technologii ozonowania materiału siewnego w redukcji stężenia mykotoksyn w ziarnie pszenicy jarej. Badania prowadzono przez dwa lata w trzech układach: wazonowym, poletkowym i polowym. Inokulację *Fusarium culmorum* przeprowadzono w badaniu wazonowym. Kompleksowa ochrona (ocet winny + chlorowodorek chitozanu + nasiona gorczycy w proszku) była najskuteczniejszą kombinacją w doświadczeniu wazonowym i poletkowym, którą zastosowano w produkcji wielkoskalowej. Sumaryczne stężenie oznaczonych mykotoksyn w warunkach kontrolowanych było najwyższe (352,6 µg/kg), w porównaniu do doświadczenia poletkowego (101,8 µg/kg) i polowego (90,1 µg/kg). Spośród analizowanych 13 mykotoksyn, najwyższy poziom stwierdzono w przypadku DON (171,6 µg/kg) i HT-2 (156,3 µg/kg) w doświadczeniu wazonowym oraz poletkowym (odpowiednio 42,1 i 43,0 µg/kg). Ozonowanie materiału siewnego w niewielkim stopniu wpłynęło na zawartość mykotoksyn w dojrzałym ziarnie. Wyniki badań wykazują potencjał stosowania kompleksowej ochrony w ekologicznej uprawie pszenicy z uwzględnieniem octu winnego, nasion gorczycy w proszku i chlorowodorku chitozanu.

Słowa kluczowe: pszenica, mykotoksyny, substancje podstawowe, chlorowodorek chitozanu, ocet winny, nasiona gorczycy w proszku, ozonowanie, redukcja

Abstract

The aim of the study was to determine the potential of basic substances (wine vinegar, chitosan hydrochloride, and mustard seed powder) and seed ozonation technology in reducing mycotoxin concentrations in spring wheat grain. The research was conducted over two years in three systems: pot, plot and field. Inoculation with *Fusarium culmorum* was performed in a pot study. Comprehensive protection (wine vinegar + chitosan hydrochloride + mustard seed powder) was the most effective combination in the pot and plot experiments, which was used in large-scale production. The total concentration of determined mycotoxins in the controlled conditions was the highest (352.6 µg/kg), compared to the plot experiment (101.8 µg/kg) and the field experiment (90.1 µg/kg). Of the 13 mycotoxins analyzed, the highest levels were found for DON (171.6 µg/kg) and HT-2 (156.3 µg/kg) in the pot and plot experiments (42.1 and 43.0 µg/kg, respectively). Ozonation of seed material had only a minor effect on mycotoxin content in mature grain. The study results demonstrate the potential use of comprehensive protection in organic wheat cultivation, including wine vinegar, mustard seed powder, and chitosan hydrochloride.

Keywords: wheat, mycotoxins, basic substances, chitosan hydrochloride, wine vinegar, mustard powder, ozonation, reduction

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Terenowa Stacja Doświadczalna w Białymstoku
ul. Chełmońskiego 22, 15-195 Białystok
*corresponding author: r.konecki@iorpib.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. to powszechne patogeny roślin uprawnych, infekujące wiele upraw, w tym zboża. Grzyby te są czynnikami etiologicznymi chorób, zwłaszcza fuzariozy kłosów, zarazy siewek i zgnilizny podstawy źdźbła (Dweba i wsp. 2017; Łozowicka i wsp. 2022). Obecność grzybów *Fusarium* spp. jest niekorzystna ze względu na zmniejszenie plonów i jakości ziarna, które są kluczowymi cechami zbóż w przemyśle piekarniczym. Najbardziej problematyczną kwestią związaną z występowaniem tych grzybów na zbożach jest wydzielanie przez nie mykotoksyn (Peršić i wsp. 2023).

Mykotoksyny są produktami ubocznymi metabolizmu białek i lipidów, i oprócz występowania bezpośrednio w ziarnie przeznaczonym do zbioru, mogą być wydzielane także podczas przechowywania zebranego zboża w nieodpowiednich warunkach (Zain 2011). Charakteryzują się dużą szkodliwością dla zdrowia ludzi i zwierząt, powodując m.in. zatrucia pokarmowe, zaburzenia hormonalne oraz wykazują działanie kancerogenne (Antonissen i wsp. 2014).

W konwencjonalnym systemie uprawy pszenicy stosuje się syntetyczne fungicydy, które ograniczają występowanie chorób grzybowych, zaś w systemie uprawy ekologicznej stosuje się biologiczne środki ochrony roślin, naturalne środki mineralne, substancje podstawowe i związki naturalne pochodzenia roślinnego lub grzybowego (Wegulo i wsp. 2015; Kowalska i wsp. 2021a).

Dostępne syntetyczne fungicydy redukują występowanie chorób grzybowych w uprawie pszenicy, a tym samym stężenie mykotoksyn (Iwaniuk i wsp. 2021). Jednak mimo ich stosowania w dalszym ciągu w ziarnie pszenicy odnotowuje się obecność mykotoksyn fuzaryjnych, takich jak: deoksyniwalenol (DON) i jego pochodne (3-AcDON, 15-AcDON), niwalenol (NIV) i zearalenon (ZEN) oraz toksyny T-2/HT-2 (Łozowicka i wsp. 2014; Nugmanov i wsp. 2018).

Większość prac naukowych dotyczy skuteczności zwalczania agrofagów przez ekologiczne środki ochrony roślin, natomiast brakuje kompleksowych badań określających skuteczność tych związków w redukcji występowania mykotoksyn w roślinach uprawnych (Kowalska i wsp. 2021b). W Polsce dopuszczonych jest 170 środków ochrony roślin do stosowania w uprawach ekologicznych, w tym 65 preparatów o działaniu fungicydowym, głównie pochodzenia mineralnego (siarka, miedź oraz fosfor), rzadziej biologicznych, wykorzystujących poszczególne szczepy grzybów pasożytniczych lub bakterii (np. 21 środków na bazie mikroorganizmów), dwa środki na bazie związków naturalnych – olejku pomarańczowego bądź mieszaniny eugenolu, geraniolu i tymolu (MRiRW 2023) oraz 24 substancje podstawowe, do których należy m.in. ocet winny, chlorowodorek chitozanu i nasiona gorczycy w proszku.

Chlorowodorek chitozanu jest naturalnym polimerem w formie soli, który – zgodnie z aktualnym stanowiskiem EFSA (2025) – jest zatwierdzony w Unii Europejskiej jako substancja podstawowa do ochrony roślin i nie budzi zastrzeżeń toksykologicznych przy zatwierdzonych zastosowaniach. Badania przeprowadzone na pszenicy wykazały, że chlorowodorek chitozanu bezpośrednio hamuje wzrost i kiełkowanie zarodników *Fusarium graminearum*, ogranicza rozwój fuzariozy kłosów oraz obniża presję patogenu i jego wirulencję. Jednocześnie działa jako elicytor odporności – uruchamia szlaki nabytej odporność systemicznej SAR (Francesconi i wsp. 2020). Stosowanie chlorowodorku chitozanu w ochronie roślin wiąże się z kilkoma istotnymi ograniczeniami technologicznymi i biologicznymi. Przede wszystkim jego skuteczność i stabilność silnie zależą od wartości pH (pH < 6), co wymaga zakwaszania roztworów roboczych i może wpływać na bezpieczeństwo aplikacji. Dodatkowym problemem jest duża zmienność jakości surowca – masa cząsteczkowa i stopień deacetylacji chitozanu determinują jego aktywność biologiczną, lepkość oraz potencjalną fitotoksyczność, przez co efekty działania są trudne do przewidzenia (Aranaz i wsp. 2021). Wysokie stężenia lub nieodpowiednie formulacje mogą powodować uszkodzenia tkanek roślin, zwłaszcza liści i korzeni (Suwanchaikasem i wsp. 2024). Choć chitosan uznawany jest za substancję bezpieczną i biodegradowalną, wciąż brakuje pełnych danych dotyczących jego wpływu na mikroorganizmy glebowe i organizmy niecelowe, szczególnie w przypadku nowych form nano- i mikropreparatów (Román-Doval i wsp. 2023).

Zastosowanie nasion gorczycy w proszku i octu winnego jako zapraw nasiennych powoduje zwiększenie masy roślin pszenicy, siły kiełkowania, zmniejszenie rozwoju zgorzeli podstawy źdźbła oraz redukcję objawów septoriozy plew i mączniaka rzekomego (Kowalska i wsp. 2019, nr PJ.re. 027.7.2019). Natomiast zastosowanie do zaprawiania nasion pszenicy i rzepaku mikroorganizmów (grzybów *Pythium oligandrum*, *Beauveria bassiana* i *Trichoderma* spp. oraz bakterii z rodzaju *Bacillus* spp.) skutkowało zwiększeniem plonu, energii i zdolności kiełkowania oraz zmniejszeniem występowania łamliwości podstawy źdźbła i septoriozy paskowanej liści (Kowalska i wsp. 2022, nr DEJ.re 027.4.2022; Kowalska i wsp. 2023, nr DEJ.re 027.4.2023). Badania te nie obejmowały jednak aplikacji nalistnej substancji podstawowych w ograniczeniu chorób grzybowych oraz ich wpływu na występowanie mykotoksyn.

Innowacyjnym rozwiązaniem, które może wpłynąć korzystnie na ograniczenie stężenia mykotoksyn jest zastosowanie technologii ozonowania materiału siewnego. Ozonowanie polega na zastosowaniu trzyatomowej cząsteczki tlenu, która charakteryzuje się właściwościami bójczymi względem mikroorganizmów. Ozon powstaje naturalnie w atmosferze ziemskiej, ale może być także produkowany przez generatory ozonu. Badania przeprowadzone w roślinach słonecznika wskazują, że ozonowanie nasion redukuje porażenie roślin przez grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. (Rodrigues i wsp. 2015). Ponadto wykazano, że ozonowanie

może zwiększać siłę i energię kiełkowania nasion pszenicy ozimej (Picchi i wsp. 2017). Badania przeprowadzone przez Vazqueza-Ybarrę i wsp. (2015) udowodniły, że ozonowanie nasion sałaty siewnej i pomidora zwyczajnego powoduje wzrost biomasy pędów i korzeni. Stwierdzono także, że ozonowanie nasion sałaty skutkuje lepszym wzrostem roślin i większą liczbą liści (Peng i wsp. 2018).

Celem badań była ocena skuteczności ekologicznych metod ochrony pszenicy w redukcji poziomu mykotoksyn.

Materiały i metody / Materials and methods

Materiał badawczy stanowiły substancje podstawowe zarejestrowane w ekologicznej uprawie pszenicy: ocet winny (Kamis), chlorowodorek chitozanu (Pol Aura, czystość 95%) i nasiona gorczycy w proszku (Golden Farm). Do inokulacji pszenicy wykorzystano grzyb gatunku *Fusarium culmorum*, który jest jednym ze sprawców fuzariozy kłosów (Iwaniuk i wsp. 2018).

Kwalifikowany materiał siewny pszenicy jarej odmiany Harenda, zalecany na rok 2024 w województwie podlaskim podzielono na dwie części, po 100 kg i jedną z nich poddano ozonowaniu. W tym celu 1 cm warstwę nasion pszenicy rozłożono równomiernie na blatach zalewowych, w szczelnie zamkniętym pomieszczeniu i poddano ekspozycji na ozon w dawce 20 g/h w ciągu 1 h uzyskując stężenie 1,17 ppm przy użyciu kwarcowego generatora ozonu (TE-03/2-20g/V4.3/MN1) z wbudowanymi czujnikami stężenia ozonu, temperatury i wilgotności. Proces przeprowadzono w temperaturze 18°C i wilgotności 45%.

Każdorazowo, nie wcześniej niż 24 godziny przed serią zabiegów w danym terminie, sporządzano mieszaniny robocze substancji podstawowych (octu winnego, sproszkowanych nasion gorczycy i chlorowodorku chitozanu).

Roztwór octu winnego przygotowano przez wymieszanie octu winnego (6%) z wodą w celu uzyskania 2% roztworu, o łącznej objętości 11 ml dla doświadczenia wazonowego, 12 l poletkowego i 30 l polowego.

Do odważonych nasion gorczycy w proszku dodano wodę o temperaturze 35°C w stosunku 1 : 2. Uzyskany macerat odstawiono na dwie godziny, a następnie wymieszano energicznie, po czym przesączono. Do otrzymanego przesączu dodano wodę w stosunku 1 : 2 uzyskując 11 ml dla doświadczenia wazonowego, 12 l poletkowego i 30 l polowego.

Roztwór chlorowodorku chitozanu uzyskano poprzez wymieszanie odważonego chlorowodorku chitozanu z wodą w celu uzyskania 1,3% roztworu o łącznej objętości 11 ml (doświadczenie wazonowe), 12 l (poletkowe) i 30 l (polowe).

Doświadczenie wazonowe i poletkowe przeprowadzono w pierwszym roku badań. W przypadku doświadczenia wazonowego materiał kwalifikowany ozonowany oraz nieozonowany został wysiany w donicach (15 × 15 cm), w czterech powtórzeniach, w komorze fitotronowej, wyposażonej w technologie oświetlenia typu LED i system kontrolowania temperatury i wilgotności. W warunkach fitotronowych uprawę pszenicy dostosowano do dwóch głównych faz rozwojowych. Do momentu kłoszenia utrzymywano temperaturę 20°C w ciągu dnia i 15°C w nocy, przy wilgotności powietrza na poziomie około 60%. Rośliny wzrastały w fotoperiodzie 14 godzin światła i 10 godzin ciemności. Od momentu rozpoczęcia kłoszenia temperaturę zwiększono do 22°C w dzień i 18°C w nocy, utrzymując wilgotność powietrza na zbliżonym poziomie oraz wydłużono fotoperiod do 16 godzin. Inokulacja zawiesiną zarodników grzyba *F. culmorum* pozyskanego z upraw pszenicy (OD600 = 0,8) została przeprowadzona przy użyciu opryskiwacza plecakowego na sprężone powietrze z dwoma rozpylaczami (XR Tee Jet 110 03 XR) w fazie BBCH 65 pszenicy (pełnia kwitnienia).

W doświadczeniu poletkowym, materiał kwalifikowany ozonowany oraz nieozonowany został wysiany zgodnie z normą wysiewu na poletkach doświadczalnych o powierzchni 30 m^2, w czterech powtórzeniach, metodą bloków losowanych, na powierzchni rolniczej prowadzonej zgodnie z zasadami rolnictwa ekologicznego.

Zabiegi substancjami podstawowymi i ich kombinacjami zostały przeprowadzone za pomocą opryskiwacza plecakowego na sprężone powietrze z dwoma rozpylaczami (XR Tee Jet 110 03 XR) w dwóch etapach: na początku strzelania w źdźbło (BBCH 30), w fazie rozwojowej liścia flagowego (BBCH 39) i końca kłoszenia (BBCH 59) – ochrona przed naturalnie występującymi chorobami podstawy źdźbła i liści oraz po zakończeniu kwitnienia pszenicy (BBCH 69) – ochrona przed fuzariozą kłosów.

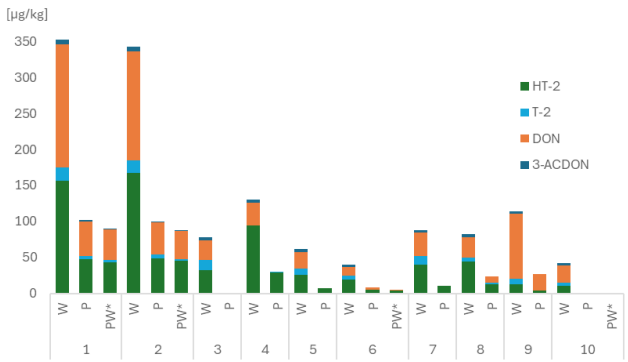
Wyniki doświadczenia poletkowego z pierwszego roku badania posłużyły do wytypowania dwóch najkorzystniejszych kombinacji badawczych do doświadczenia polowego produkcji wielkoskalowej w drugim roku badania. Materiał siewny wysiano na pola produkcji ekologicznej wielkoskalowej (1900 m^2), a zabiegi substancjami podstawowymi i ich kombinacjami zostały przeprowadzone za pomocą opryskiwacza ciągnikowego: w fazie BBCH 30 pszenicy (ochrona przed naturalnie występującymi chorobami podstawy źdźbła i liści), BBCH 39, BBCH 59 oraz w fazie BBCH 69 pszenicy (ochrona przed naturalnie występującą fuzariozą kłosów).

Zbiór plonu przeprowadzono po osiągnięciu dojrzałości pszenicy (BBCH 89, przy wilgotności 14%), ręcznie w przypadku doświadczenia wazonowego i poletkowego z danego powtórzenia. W przypadku doświadczenia polowego produkcji wielkoskalowej plon zebrano z wykorzystaniem kombajnu zbożowego z każdej kombinacji, z której do dalszych analiz pobrano po cztery podpróbki.

Mykotoksyny zostały wyekstrahowane ze zhomogenizowanego ziarna pszenicy, zebranego w fazie BBCH 89, przy użyciu roztworu acetonitrylu z 1% kwasem mrówkowym. Profil 13 mykotoksyn (DON, 3-AcDON, 15-AcDON,

ZEN, NEO, NIV, FusX, DAS, toksyna T-2, toksyna HT-2, fumonizyna B1, B2, B3) oznaczono za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) przy użyciu aparatury Eksigent Ultra LC-100 (Eksigent Technologies, Dublin, CA, USA). Do analizy wykorzystano kolumnę KINETEX XB C18 1,7 µm, 2,1 × 50 mm (Phenomenex). Analiza spektrometrii mas została przeprowadzona przy użyciu systemu MS/MS 6500 QTRAP (AB Sciex Instruments, Foster City, CA). W celu określenia stężenia wszystkich mykotoksyn wykorzystano tryb monitorowania wielu reakcji (MRM). Dla każdej mykotoksyny określono jon prekursorowy i dwa jony produktowe (Nugmanov i wsp. 2018; Łozowicka i wsp. 2022). Walidację metody przeprowadzono zgodnie z dokumentem SANTE/12089/2016 (SANTE 2016; Rutkowska i wsp. 2020).

W próbkach z niewykrywalnym stężeniem mykotoksyn przyjęto wartości 0. Uzyskane wyniki zostały opracowane statystycznie metodą analizy wariancji ANOVA dla doświadczeń jednoczynnikowych i dwuczynnikowych w programie Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa, USA). Do weryfikacji danych na poziomie istotności p = 0,05 wykorzystano test Fischera.



1 – kontrola – control, 2 – ozonowany materiał siewny – ozonated seed material, 3 – ocet z czerwonego wina – red wine vinegar, 4 – chlorowodorek chitozanu – chitosan hydrochloride, 5 – nasiona gorczycy w proszku – powdered mustard seeds, 6 – ocet z czerwonego wina + chlorowodorek chitozanu + nasiona gorczycy w proszku – red wine vinegar + chitosan hydrochloride + powdered mustard seeds, 7 – ozonowany materiał siewny + ocet z czerwonego wina – ozonated seed material + red wine vinegar, 8 – ozonowany materiał siewny + chlorowodorek chitozanu – ozonated seed material + chitosan hydrochloride, 9 – ozonowany materiał siewny + nasiona gorczycy w proszku – ozonated seed material + powdered mustard seeds, 10 – ozonowany materiał siewny + ocet z czerwonego wina + chlorowodorek chitozanu + nasiona gorczycy w proszku – ozonated seed material + red wine vinegar + chitosan hydrochloride + powdered mustard seeds W – doświadczenie wazonowe – pot experiment, P – doświadczenie poletkowe – plot experiment, PW* – doświadczenie polowe wielkoskalowe – large-scale field experiment

Rys. 1. Suma stężeń mykotoksyn w ziarnie pszenicy
Fig. 1. Total mycotoxin concentrations in wheat grain

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Spośród 13 badanych mykotoksyn, w ziarnie pszenicy wykryto 4 związki: 3-acetylodeoksyniwalenolu (3-AcDON), deoksyniwalenolu (DON), toksyn HT-2 i T-2, które są charakterystycznymi metabolitami i wtórnymi metabolitami patogenów grzybowych z rodzaju *Fusarium*. Najwyższe stężenia mykotoksyn odnotowano na poletkach niechronionych. Zabiegi z wykorzystaniem poszczególnych substancji podstawowych skutkowały redukcją zawartości mykotoksyn w porównaniu do kontroli, zaś kompleksowa ochrona trójskładnikowa (ocet winny + nasiona gorczycy w proszku + chlorowodorek chitozanu) była najskuteczniejsza (rys. 1).

Stężenie mykotoksyn w doświadczeniu wazonowym, w którym przeprowadzono inokulację pszenicy grzybem patogenicznym *F. culmorum* było wyższe w porównaniu do eksperymentu polowego. Najwyższą zawartość tych toksyn odnotowano w kontroli (kombinacja 1; 352,6 µg/kg) i kontroli ozonowanej (kombinacja 2; 342,5 µg/kg). Najbardziej efektywna w redukcji poziomu toksycznych metabolitów była kompleksowa ochrona z uwzględnieniem octu winnego, nasion gorczycy w proszku i chlorowodorku chitozanu w połączeniu z ozonowaniem (kombinacja 10; 88% redukcji) i bez ozonowania (kombinacja 6; 89% redukcji) (rys. 1). DON i toksyna HT-2 charakteryzowały się najwyższymi wartościami: 171,6 µg/kg i 156,3 µg/kg w przypadku kontroli oraz 151,5 µg/kg i 167,2 µg/kg w kontroli ozonowanej (tab. 1). Suma stężeń mykotoksyn HT-2 i T-2 powyżej 50 µg/kg jest wartością nieakceptowaną, która świadczy o tym, że ziarno nie nadaje się do spożycia (Rozporządzenie Komisji (UE) 2024/1038).

W przypadku doświadczenia poletkowego, stężenie mykotoksyn było najwyższe również w kontroli (kombinacja 1; 101,8 µg/kg) i kontroli ozonowanej (kombinacja 2; 100,3 µg/kg). Najwyższą skuteczność w redukcji stężenia mykotoksyn, podobnie jak w przypadku doświadczenia wazonowego, wykazała kompleksowa ochrona z uwzględnieniem octu winnego, nasion gorczycy w proszku i chlorowodorku chitozanu bez ozonowania (kombinacja 6; 91% redukcji) i w połączeniu z ozonowaniem (kombinacja 10), w której nie wykryto występowania mykotoksyn (rys. 1). Dużą skutecznością charakteryzowała się także aplikacja octu winnego (kombinacja 3), która skutkowała brakiem występowania mykotoksyn w ziarnie pszenicy. DON i toksynę HT-2 odnotowano w najwyższych stężeniach 47,7 µg/kg i 47,4 µg/kg w przypadku kontroli oraz 44,6 µg/kg i 49,2 µg/kg w kontroli ozonowanej (tab. 1). Przekroczenie sumy bezpiecznych poziomów mykotoksyn HT-2 i T-2 (50 µg/kg) wystąpiło jedynie w kontroli i po zastosowaniu wyłącznie ozonowania, podczas gdy ziarno pozyskane z kombinacji poddanych pozostałym zabiegom było bezpieczne ze względu na niską zawartość mykotoksyn.

W doświadczeniu polowym produkcji wielkoskalowej, stężenie mykotoksyn było najniższe we wszystkich kombinacjach, w porównaniu do badania wazonowego i poletkowego. Najwyższe stężenia sumy mykotoksyn odnotowano w kontroli i kontroli z ozonowanym materiałem siewnym (kombinacja 1 i 2; odpowiednio 90,1 µg/kg i 87,5 µg/kg) (rys. 1). Podobnie, jak w doświadczeniu poletkowym, w przypadku kompleksowej ochrony z ozonowanym ma-

Tabela 1. Stężenia mykotoksyn w ziarnie pszenicy [µg/kg]
Table 1. Mycotoxin concentrations in wheat grain [µg/kg]

Kombinacja Combination	3-ACDON [µg/kg]			DON [µg/kg]			HT-2 [µg/kg]			T-2 [µg/kg]		
	W	P	PW	W	P	PW	W	P	PW	W	P	PW
1	6,4 b	**2,0 b**	**1,5 b**	**172 e**	**48 d**	**42 c**	156 e	47 d	43 c	**18 e**	**4,8 b**	**3,5 c**
2	**6,7 b**	1,8 b	1,2 b	151 e	45 d	39 c	**167 e**	**49 d**	**46 c**	17 e	**4,8 b**	2,1 c
3	4,3 a	*0,0 a*	–	27 bc	*0,0 a*	–	32 b	0,0 a	–	14 d	*0,0 a*	–
4	3,8 a	*0,0 a*	–	32 c	*0,0 a*	–	94 d	30 c	–	*0,36 a*	0,10 a	–
5	4,7 a	*0,0 a*	–	22 b	*0,0 a*	–	26 b	7,5 ab	–	9,1 cd	*0,0 a*	–
6	3,1 a	*0,0 a*	*0,0 a*	*12 a*	3,7 a	1,4 b	19 ab	5,2 a	3,8 b	5,6 c	*0,0 a*	*0,0 a*
7	3,2 a	*0,0 a*	–	32 c	*0,0 a*	–	40 c	11 b	–	12 d	*0,0 a*	–
8	4,1 a	*0,0 a*	–	28 b	8,2 b	–	44 c	13 b	–	6,1 c	1,9 ab	–
9	3,4 a	*0,0 a*	–	90 d	24 c	–	13 a	3,9 a	–	7,6 c	*0,0 a*	–
10	*2,7 a*	*0,0 a*	*0,0 a*	25 b	*0,0 a*	*0,0 a*	*11 a*	*0,0 a*	*0,0 a*	3,8 b	*0,0 a*	*0,0 a*

1 – kontrola – control, 2 – ozonowany materiał siewny – ozonated seed material, 3 – ocet z czerwonego wina – red wine vinegar, 4 – chlorowodorek chitozanu – chitosan hydrochloride, 5 – nasiona gorczycy w proszku – powdered mustard seeds, 6 – ocet z czerwonego wina + chlorowodorek chitozanu + nasiona gorczycy w proszku – red wine vinegar + chitosan hydrochloride + powdered mustard seeds, 7 – ozonowany materiał siewny + ocet z czerwonego wina – ozonated seed material + red wine vinegar, 8 – ozonowany materiał siewny + chlorowodorek chitozanu – ozonated seed material + chitosan hydrochloride, 9 – ozonowany materiał siewny + nasiona gorczycy w proszku – ozonated seed material + powdered mustard seeds, 10 – ozonowany materiał siewny + ocet z czerwonego wina + chlorowodorek chitozanu + nasiona gorczycy w proszku – ozonated seed material + red wine vinegar + chitosan hydrochloride + powdered mustard seeds

W – doświadczenie wazonowe – pot experiment, P – doświadczenie poletkowe – plot experiment, PW – doświadczenie polowe wielkoskalowe – large-scale field experiment

Średnie w tej samej kolumnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie przy $p < 0,05$ według testu NIR Fishera (n = 4) – Means in the same column marked with the same letter do not differ significantly at $p < 0.05$ according to Fisher's LSD test (n = 4)

Wartość pogrubiona – maksymalne stężenie – Bold value – maximum concentration, Wartość pochylona – minimalne stężenie – Italicized value – minimum concentration

teriałem siewnym na polu produkcji wielkoskalowej nie stwierdzono występowania mykotoksyn. Niewielkie stężenie tych związków wykryto w wyniku przeprowadzonej kompleksowej ochrony bez ozonowania materiału siewnego (redukcja stężenia o 94% w kombinacji 3). DON i toksyna HT-2 występowały w najwyższych stężeniach i osiągnęły wartości 42,1 µg/kg i 43,0 µg/kg w przypadku kontroli oraz 38,5 µg/kg i 45,7 µg/kg w kontroli ozonowanej (tab. 1). W doświadczeniu polowym wielkoskalowym, suma stężeń mykotoksyn HT-2 i T-2 nie przekraczała 50 µg/kg, co świadczy o tym, że nawet zboże z kontroli i kontroli ozonowanej (kombinacja 1 i 2) spełnia normę dla nieprzetworzonych ziaren zbóż.

Dotychczasowe doniesienia wskazują na korzystny efekt odkażający i detoksykujący ozonowania w przechowalnictwie ziarna zbóż (Reinholds i wsp. 2016; Sanchez i wsp. 2025). W badaniach własnych zastosowanie technologii ozonowania materiału siewnego nie wpłynęło na obniżenie poziomów mykotoksyn.

Zabiegi wykonane chlorowodorkiem chitozanu i octem winnym najskuteczniej obniżały zawartość DON, tj. 6–7-krotnie. Równie wysoką skuteczność redukcji tej mykotoksyny obserwowano w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem samego chitozanu w pszenicy inokulowanej *F. graminearum* (Zachetti i wsp. 2019). Badania wskazują, że chlorowodorek chitozanu, uszkadzając błony komórkowe i hamując metabolizm patogenów, charakteryzuje się skutecznym zwalczaniem *Phytophthora infestans* w uprawie ziemniaka i *Fusarium* spp. w uprawie pomidora (Safari i wsp. 2021; Poldmets i wsp. 2025). Roztwór maceratu z nasion gorczycy w proszku najefektywniej przyczyniał się do ponad 8-krotnego zmniejszenia zawartości HT-2 oraz ponad 3-krotnego DON, którego redukcję obserwowano również w badaniach *in vitro* po inokulacji ziarna pszenicy *F. graminearum* (Drakopoulos i wsp. 2020). Ze względu na zawartość glukozynolanów, które po zmieleniu nasion gorczycy ulegają przekształceniu w izotiocyjaniany, nasiona gorczycy w proszku hamują wzrost mikroorganizmów (Randall i Popova 2023). W literaturze naukowej brak jest jednak doniesień na temat działania nasion gorczycy w proszku w ochronie roślin. Substancja ta była jednak wykorzystywana w biofumigacji nasion bakłażana i ograniczaniu występowania *Verticillium dahliae* oraz biofumigacji nasion ciecierzycy przed *Fusarium* spp. (Sarhan i wsp. 2020; Meng i wsp. 2022). Natomiast roztwory octu winnego stosowane były w jęczmieniu przeciwko *Pyrenophora graminea*, a także w uprawach dyni, pomidora i papryki przeciwko grzybom *Alternaria* spp. (Kowalska i wsp. 2021a). Ocet winny zakwasza środowisko, uszkadza błonę komórkową i hamuje oddychanie komórkowe patogenów, dzięki czemu charakteryzuje się skutecznym działaniem ograniczającym rozwój mikroorganizmów (Stratford i wsp. 2009). Zastosowanie kompleksowej ochrony (octu winnego, chlorowodorku chitozanu oraz roztworu maceratu z nasion gorczycy w proszku) niezależnie od ozonowania materiału siewnego, jak i typu doświadczenia, skutkowało obecnością najniższych

poziomów mykotoksyn, z wyjątkiem T-2 w badaniu wazonowym po zastosowaniu 1,3% chlorowodorku chitozanu.

Związki pochodzenia naturalnego, stosowane w rolnictwie ekologicznym pozbawione są negatywnych zdrowotnych i środowiskowych skutków ubocznych, towarzyszących syntetycznym środkom ochrony roślin, stosowanym w rolnictwie konwencjonalnym. Polska ma ogromny potencjał do rozwoju sektora rolnictwa ekologicznego, a uprawa pszenicy w systemie ekologicznym jest odpowiedzią na przyjętą przez Komisję Europejską strategię „Europejskiego Zielonego Ładu", która determinuje kraje członkowskie m.in. do zwiększenia udziału upraw prowadzonych w systemie ekologicznym (25% do 2030 r.).

Wnioski / Conclusions

1. Kompleksowa ochrona trójskładnikowa (ocet winny + nasiona gorczycy w proszku + chlorowodorek chitozanu) skutkowała uzyskaniem najniższego stężenia szkodliwych dla zdrowia mykotoksyn w ziarnie, szczególnie toksyny HT-2, której chroniczne spożycie prowadzi do osłabienia układu odpornościowego, zaburzeń hormonalnych i potencjalnych skutków kancerogennych.
2. W warunkach naturalnego porażenia upraw pszenicy prowadzonych w systemie wielkoskalowym, wykonanie zabiegów poszczególnymi substancjami podstawowymi skutkowało obecnością mykotoksyn poniżej akceptowalnych bezpiecznych poziomów (HT-2 i T-2 – 50 µg/kg), spełniając wymagania dla nieprzetworzonych ziaren zbóż.
3. Zastosowanie technologii ozonowania materiału nie wpłynęło istotnie statystycznie na obniżenie poziomu mykotoksyn w ziarnie pszenicy w porównaniu do badań prowadzonych z materiałem nieozonowanym.

Finansowanie / Funding

Badanie zostało sfinansowane ze środków Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi w ramach projektu: „Uprawy polowe metodami ekologicznymi: badania w zakresie identyfikacji metod ochrony, dopuszczonych w rolnictwie ekologicznym, przed chorobami grzybowymi i szkodnikami w uprawie roślin rolniczych oraz opracowanie przewodnika wraz z wytycznymi w tym zakresie" zrealizowanego w Instytucie Ochrony Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym na rzecz rolnictwa ekologicznego (DEJ.re 765.20.2024).

Literatura / References

Antonissen G., Martel A., Pasmans F., Ducatelle R., Verbrugghe E., Vandenbroucke V., Li S., Haesebrouck F., Van Immerseel F., Croubels S. 2014. The impact of Fusarium mycotoxins on human and animal host susceptibility to infectious diseases. Toxins 6 (2): 430–452. DOI: 10.3390/toxins6020430

Aranaz I., Alcántara A.R., Civera M.C., Arias C., Elorza B., Heras Caballero A., Acosta N. 2021. Chitosan: an overview of its properties and applications. Polymers 13 (19): 3256. DOI: 10.3390/polym13193256

Drakopoulos D., Meca G., Torrijos R., Marty A., Kägi A., Jenny E., Forrer H.R., Six J., Vogelgsang S. 2020. Control of *Fusarium graminearum* in wheat with mustard-based botanicals: from *in vitro* to *in planta*. Frontiers in Microbiology 11: 1595. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01595

Dweba C.C., Figlan S., Shimelis H.A., Motaung T.E., Sydenham S., Mwadzingeni L., Stilo T.J. 2017. Fusarium head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. Crop Protection 91: 114–122. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.10.002

EFSA PPR Panel 2025. Statement concerning the review of the approval of the basic substances chitosan and chitosan hydrochloride when used in plant protection. EFSA Journal. DOI: 10.2903/j.efsa.2025.9318

Francesconi S., Steiner B., Buerstmayr H., Lemmens M., Sulyok M., Balestra G.M. 2020. Chitosan hydrochloride decreases *Fusarium graminearum* growth and virulence and boosts growth, development and systemic acquired resistance in two durum wheat genotypes. Molecules 25 (20): 4752. DOI: 10.3390/molecules25204752

Iwaniuk P., Konecki R., Snarska K., Łozowicka B. 2018. Quantitative evaluation of *Fusarium* species and crop quality traits in wheat varieties of northeastern Poland. Journal of Plant Protection Research 58 (4): 413–419. DOI: 10.24425/jppr.2018.125882

Iwaniuk P., Łozowicka B., Kaczyński P., Konecki R. 2021. Multifactorial wheat response under *Fusarium culmorum*, herbicidal, fungicidal and biostimulator treatments on the biochemical and mycotoxins status of wheat. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 20 (7): 443–453. DOI: 10.1016/j.jssas.2021.05.010

Kowalska J., Krzymińska J., Jakubowska M., Antkowiak M., Kardasz P., Łukaszyk J., Łopatka L., Nowaczyk R. 2022. Uprawy polowe metodami ekologicznymi: badania w zakresie możliwości zastosowania dopuszczonych w rolnictwie ekologicznym środków do celów zaprawiania nasion roślin rolniczych oraz jako nawozów o działaniu dolistnym. Badania nad wykorzystaniem mikroorganizmów pożytecznych oraz substancji podstawowych do zaprawiania ziarna pszenicy jarej w kierunku optymalizacji jej uprawy (nr DEJ.re 027.4.2022).

Kowalska J., Krzymińska J., Jakubowska M., Tyburski J., Gwiazdowski R., Łopatka L., Nowaczyk R. 2019. Uprawy polowe metodami ekologicznymi: optymalizacja sposobów zaprawiania materiału siewnego i nasadzeniowego stosowanego w rolnictwie ekologicznym (nr PJ.re. 027.7.2019).

Kowalska J., Krzymińska J., Łopatka L., Holka M., Jajor E., Strażyński P., Antkowiak M., Tyburski J. 2023. Badania w zakresie doskonalenia agrotechniki roślin oleistych uprawianych w rolnictwie ekologicznym, ze szczególnym uwzględnieniem metod ochrony roślin. Wykorzystanie biologicznych i naturalnych środków ochrony w celu zapewnienia zdrowotności i ochrony plonu rzepaku ozimego (nr DEJ.re 027.4.2023).

Kowalska J., Roszkowski S., Krzymińska J. 2021a. Substancje podstawowe – efektywne uzupełnienie metod ochrony upraw. Progress in Plant Protection 61 (2): 139–146. DOI: 10.14199/ppp-2021-015

Kowalska J., Tyburski J., Krzymińska J., Jakubowska M. 2021b. Effects of seed treatment with mustard meal in control of *Fusarium culmorum* Sacc. and the growth of common wheat (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*). European Journal of Plant Pathology 159 (2): 327–338. DOI: 10.1007/s10658-020-02165-9

Łozowicka B., Iwaniuk P., Konecki R., Kaczyński P., Kuldybayev N., Dutbayev Y. 2022. Impact of diversified chemical and biostimulator protection on yield, health status, mycotoxin level, and economic profitability in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivation. Agronomy 12 (2): 258. DOI: 10.3390/agronomy12020258

Łozowicka B., Kaczyński P., Paritova A.E., Kuzembekova G.B., Abzhalieva A.B., Sarsembayeva N.B., Alihan K. 2014. Pesticide residues in grain from Kazakhstan and potential health risks associated with exposure to detected pesticides. Food and Chemical Toxicology 64: 238–248. DOI: 10.1016/j.fct.2013.11.038

Meng L., Zhang Y., Yu S., Ogundeji A.O., Zhang S., Li S. 2022. Temporal assessment of biofumigation using mustard and oilseed rape tissues on *Verticillium dahliae*, soil microbiome and yield of eggplant. Agronomy 12 (12): 2963. DOI: 10.3390/agronomy12122963

MRiRW 2023. https://www.gov.pl/web/rolnictwo/ochrona-roslin-w-rolnictwie-ekologicznym [dostęp: 29.11.2023].

Nugmanov A., Beishova I., Kokanov S., Lozowicka B., Kaczynski P., Konecki R., Snarska K., Wolejko E., Sarsembayeva N., Abdigaliyeva T. 2018. Systems to reduce mycotoxin contamination of cereals in the agricultural region of Poland and Kazakhstan. Crop Protection 106: 64–71. DOI: 10.1016/j.cropro.2017.12.014

Peng Y., Yan-Zhi G., Ling Q. 2018. Effects of ozone-treated domestic sludge on hydroponic lettuce growth and nutrition. Journal of Integrative Agriculture 17 (3): 593–602. DOI: 10.1016/S2095-3119(17)61868-9

Peršić V., Božinović I., Varnica I., Babić J., Španić V. 2023. Impact of Fusarium head blight on wheat flour quality: examination of protease activity, technological quality and rheological properties. Agronomy 13 (3): 662. DOI: 10.3390/agronomy13030662

Picchi V., Monga R., Marzuoli R., Gerosa G., Faoro F. 2017. The ozone-like syndrome in durum wheat (*Triticum durum* Desf.): Mechanisms underlying the different symptomatic responses of two sensitive cultivars. Plant Physiology and Biochemistry 112: 261–269. DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.01.011

Poldmets M., Koppel M., Puidet B., Abuley I.K., Belle N., Lynott J., Hansen J.G., Hausladen H., Hokka M., Lukkala R., Maenpaa J., Meno L., Grenville-Briggs L., Dotson B.R., Ravnskov S., Lees A. 2025. Use of biological control agents and plant resistance inducers for the control of potato late blight (*Phytophthora infestans*). Potato Research. DOI: 10.1007/s11540-025-09899-1

Randall J., Popova I. 2023. Kinetics of *Brassicaceae* glucosinolates sinigrin, sinalbin, and glucolimnanthin hydrolysis by myrosinase isoenzymes for biopesticide development. Journal of Natural Pesticide Research 6: 100059. DOI: 10.1016/j.napere.2023.100059

Reinholds I., Juodeikiene G., Bartkiene E., Zadeike D., Bartkevics V., Krungleviciute V., Cernauskas D., Cižeikiene D. 2016. Evaluation of ozonation as a method for mycotoxins degradation in malting wheat grains. World Mycotoxin Journal 9 (3): 409–418. DOI: 10.3920/WMJ2015.2011

Rodrigues V.O., Costa F.R., Nery M.C., Cruz S.M., de Melo S.G.F., de Carvalho M.L.M. 2015. Treating sunflower seeds subjected to ozonization. Journal of Seed Science 37 (3): 202–210. DOI: 10.1590/2317-1545v37n3148582

Román-Doval R., Torres-Arellanes S.P., Tenorio-Barajas A.Y., Gómez-Sánchez A., Valencia-Lazcano A.A. 2023. Chitosan: properties and its application in agriculture in context of molecular weight. Polymers 15 (13): 2867. DOI: 10.3390/polym15132867

Rozporządzenie Komisji (UE) 2024/1038 z dnia 9 kwietnia 2024 r. zmieniające rozporządzenie (UE) 2023/915 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów toksyn T-2 i HT-2 w żywności. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej L 2024/1038, 10.4.2024.

Rutkowska E., Łozowicka B., Kaczyński P. 2020. Compensation of matrix effects in seed matrices followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry analysis of pesticide residues. Journal of Chromatography A, 1614: 460738. DOI: 10.1016/j.chroma.2019.460738

Safari Z.S., Ding P., Nakasha J.J., Yusoff S.F. 2021. Controlling *Fusarium oxysporum* tomato fruit rot under tropical condition using both chitosan and vanillin. Coatings 11 (3): 367. DOI: 10.3390/coatings11030367

Sanchez D., Jespersen B., Rasmussen L., Andersen M. 2025. Impact of gaseous ozone on fungal control and grain germination in various cereals. Ozone: Science & Engineering 47 (4): 1–13. DOI: 10.1080/01919512.2025.2461461

SANTE 2016. Document No. SANTE/12089/2016. Guidance document on identification of mycotoxins in food and feed. https://ec.europa.eu/food/system/files/2017-05/cs_contaminants_sampling_guid-doc-ident-mycotoxins.pdf [dostęp: 14.12.2022].

Sarhan E.A.D., El-Sayed S.A., Abdelmaksoud H.M., Elmarsafawy T.S. 2020. Influence of biofumigation with mustard or canola seed meal in controlling soil-borne pathogenic fungi of chickpea. Egyptian Journal of Agricultural Research 98 (1): 40–51. DOI: 10.21608/ejar.2020.101417

Stratford M., Plumridge A., Nebe-von-Caron G., Archer D.B. 2009. Inhibition of spoilage mould conidia by acetic acid and sorbic acid involves different modes of action, requiring modification of the classical weak-acid theory. International Journal of Food Microbiology 136 (1): 37–43. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.025

Suwanchaikasem P., Idnurm A., Selby-Pham J., Walker R., Boughton B.A. 2024. The impacts of chitosan on plant root systems and its potential to be used for controlling fungal diseases in agriculture. Journal of Plant Growth Regulation 43: 3424–3445. DOI: 10.1007/s00344-024-11356-1

Vazquez-Ybarra J.A., Pena-Valdivia C.B., Trejo C., Villegas-Bastida A., Benedicto-Valdez S., Sánchez-García P. 2015. Promoción del crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) con dosissubletales de ozonoaplicadas al medio de cultivo. Revista Fitotecnia Mexicana 38 (4): 405–413.

Wegulo S.N., Baenziger S.P., Nopsa J.H., Bockus W.W., Hallen-Adams H. 2015. Management of Fusarium head blight of wheat and barley. Crop Protection 73: 100–107. DOI: 10.1016/j.cropro.2015.02.025

Zachetti V.G.L., Cendoya E., Nichea M.J., Chulze S.N., Ramirez M.L. 2019. Preliminary study on the use of chitosan as an eco-friendly alternative to control *Fusarium* growth and mycotoxin production on maize and wheat. Pathogens 8 (1): 29. DOI: 10.3390/pathogens8010029

Zain M.E. 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. Journal of Saudi Chemical Society 15 (2): 129–144. DOI: 10.1016/j.jscs.2010.06.006