

鸡舍环境中积尘真菌的空间分布研究

郭静, 王雅玲*, 王钰卓, 胡海锐, 高晓梅, 吴迪, 宋丽, 彭红艳

(1. 大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600; 2. 辽宁省微生物科学研究所, 辽宁朝阳 122000; 3. 沈阳农业大学, 辽宁沈阳 110161)

摘要 [目的] 探讨鸡舍环境内积尘真菌的生物多样性和空间分布规律。[方法] 采集封闭式鸡舍内4个不同高度(距地面0、75、150、225 cm)的积尘样品进行真菌的生物多样性及分布规律研究。采用PDA和RBC 2种真菌培养基进行分离、纯化、鉴定。[结果] 从封闭式鸡舍中共获得507株15种类群的真菌, 其中包括黄曲霉 3.13×10^4 cfu/g, 镰孢菌 8.61×10^4 cfu/g, 酵母菌 3.53×10^4 cfu/g等3种优势菌真菌属。积尘中真菌总浓度达 2.03×10^5 cfu/g。2种真菌培养基比较表明, 无论从分离的种类还是分离的数量, PDA的分离效果都好于RBC。研究还发现, 积尘中的真菌浓度随着高度的上升而下降。[结论] 该研究为鸡舍的日常管理及由真菌引起的流行病的防治提供了重要理论依据。

关键词 霉菌; 养殖环境; 灰尘; 分布规律

中图分类号 S831.4+5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)34-15000-02

Study on Spatial Distribution of Fungi in Deposit Dust in the Environment of Chicken House

GUO Jing et al (College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116600)

Abstract [Objective] The study aimed to discuss the fungal diversity and the spatial distribution law in deposit dust in the environment of chicken house. [Method] The deposit dust samples were collected from the close chicken house in four different height (0, 75, 150, 225 cm apart from ground resp.) to study the fungal diversity and distribution law in chicken house. 2 kinds of fungal medium of PDA and RBC were used to separate, purify and identify on the fungal isolations. [Result] 507 strains and 15 species (or genus) were gained from the close chicken house and they included the predominance fungi such as *Aspergillus flavus* (3.13×10^4 cfu/g), *Fusarium* (8.61×10^4 cfu/g), *Saccharomyces* (3.53×10^4 cfu/g). The total concn. of fungi in deposit dust was 2.03×10^5 cfu/g. Comparison on 2 kinds of fungal mediums showed that, no matter on the separation species or on the separation amount the separation result of PDA was better than that of RBC. It was also found that the fungal concn. in deposit dust of chicken house was decreased with the height apart from the ground. [Conclusion] This study provided the important theory basis for the daily management of chicken house and the control of the epidemic disease caused by fungi.

Key words Fungi; Animal raising environment; Dust; Distribution law

真菌是鸡舍环境的重要影响因子, 是造成鸡舍环境污染的重要因素。伴随我国养殖业规模的不断扩大, 关于各种禽类的流行病的报道屡见不鲜, 而真菌又是这些流行病的重要致病根源。这些疾病给我国的养殖业带来巨大的经济损失, 国家花费了巨大的人力、物力和财力来预防和控制这些疾病。关于禽类疾病传染给人类的例子也层出不穷, 对养殖人员的健康构成了严重的威胁, 关于空气传播真菌致病的报道已有很多^[1]。大多数养殖企业由于卫生条件的限制, 积尘(指空气的浮尘依靠自身重力沉降在环境中物体表面并常年积累的尘埃)在人力、风力等外力的帮助下, 成为真菌传播的重要途径, 而有关这方面的研究还未见报道。笔者研究的目的是探讨鸡舍环境内积尘真菌的生物多样性, 二是找出积尘的空间分布规律, 试图为饲养人员对鸡舍的日常管理和清洁卫生工作提供重要的理论依据。

1 材料与方

1.1 采样鸡舍概况 选择大连市凤栖园养殖场的封闭式无空调的雏鸡舍(4 300 m², 17 200 只鸡), 养殖密度为4 只/m², 湿度62%, 温度23℃, 静风环境中。

1.2 采样方法 在鸡舍内选择4个高度, 即地面(0 cm)、鸡舍中间高度(75 cm)、人类呼吸高度(150 cm)、鸡舍顶部高度(225 cm)进行采样, 共采集积尘样品4份, 置于无菌袋中然后封口带回实验室。4份样品中各取一部分立即进行真菌分离纯化, 剩余样品置于4℃冰箱保存。

1.3 真菌的分离、纯化及鉴定 采用稀释平板法进行积尘样品真菌分离^[2-3], 将所得样品分别进行10倍梯度稀释^[4],

取1 ml 10^{-2} 倍和 10^{-3} 倍的稀释样本以倾注法接种于葡萄糖马铃薯琼脂(PDA)培养基(马铃薯200 g, 葡萄糖20 g, 琼脂20 g, 蒸馏水1 000 ml)和虎红氯霉素琼脂(RBC)培养基(蛋白胨5 g, 葡萄糖10 g, 磷酸氢二钾1 g, 硫酸镁0.5 g, 虎红琼脂20 g, 蒸馏水1 000 ml, 氯霉素0.1 g) 2种培养基中, 25℃, 光照培养箱(GXZ-260B)中培养5 d计数, 然后分离、纯化, 按照形态学方法鉴定^[5-7]、分离菌株并保存。

1.4 数据处理 将PDA和RBC 2种培养基计数结果按照公式进行积尘浓度计算, 并将不同高度积尘浓度的平均值用Excel处理, 根据处理结果找出其中的空间分布规律。菌落数 $cfu = (n \times 1\ 000 + m \times 100) / 2$ 。式中, n代表稀释1 000倍的真菌菌落数, m代表稀释100倍的菌落数。

2 结果与分析

2.1 鸡舍环境中积尘真菌的组成 按照“1.3”中的操作步骤, 共获得507株真菌分离株, 共鉴定出15种真菌类群, 其中优势真菌为黄曲霉(3.13×10^4 cfu/g)、镰孢菌(8.61×10^4 cfu/g)、酵母菌(3.53×10^4 cfu/g)等。鸡舍内积尘中气载真菌浓度为 2.03×10^5 cfu/g, 未产孢或受认知程度的限制而未被鉴定真菌的真菌浓度为 1.34×10^4 cfu/g(表1)。

2.2 积尘真菌的垂直分布规律 按照“1.3”、“1.4”方法进行分析, 距地面0、75、150、225 cm的真菌浓度分别是 11.25×10^4 、 4.19×10^4 、 3.00×10^4 、 1.90×10^4 cfu/g(表1)。结果发现, 真菌平均浓度随着高度的上升逐渐下降(图1), 并且PDA和RBC 2种培养基的结果一致。

2.3 优势真菌的空间分布规律 按照真菌分离频率超过10%为优势真菌的标准判定^[8]。鸡舍积尘中共分离到优势菌群有黄曲霉、镰孢菌、酵母菌等, 除了镰孢菌的地面浓度显著高于其他高度之外, 其他2种优势菌群浓度均随高度而增加, 基本上在1.03

基金项目 国家自然科学基金(30771584); 大连民族学院博士启动金项目。

作者简介 郭静(1987-), 女, 辽宁本溪人, 本科, 专业: 生物工程。
* 通讯作者。

收稿日期 2008-09-22

$\times 10^4 \sim 3.53 \times 10^4$ cfu/g 范围内波动, 酵母菌浓度在 75 cm 高度最低, 黄曲霉浓度随着高度的上升而逐渐减少(图2)。

表1 鸡舍内不同高度积尘中气载真菌的种类和浓度

Table 1 The species and concentration of airborne fungi in bulk dust at different height of chicken house

编号 No.	分离株种类 Kinds of isolated strains	不同采样高度的 真菌浓度 $\times 10^4$ cfu/g Fungal concentration at different sampling height				总浓度 $\times 10^4$ cfu/g Total concentration
		0	75 cm	150 cm	225 cm	
1	镰孢菌	8.03	0.27	0.30	0.01	8.61
2	酵母菌	1.19	0.43	1.10	0.82	3.53
3	木霉	0.05	0.74	0.08	0.21	1.08
4	黄曲霉	1.48	1.65	-	-	3.13
5	黑曲霉	-	0.20	0.60	-	0.80
6	青霉	-	-	-	0.10	0.10
7	岛青霉	-	0.32	-	-	0.32
8	根霉	-	-	0.46	-	0.46
9	华根霉	-	0.06	-	-	0.06
10	单孢菌	-	0.40	-	-	0.40
11	单头孢菌	-	-	0.01	0.05	0.06
12	黄球瘤孢菌	-	-	0.09	0.01	0.10
13	蜡叶芽枝菌	-	-	-	0.10	0.10
14	毛霉	-	-	-	0.22	0.22
15	短帚霉	-	0.02	-	-	0.02
16	未知	0.50	0.10	0.36	0.38	1.34
总数		11.25	4.19	3.00	1.90	20.34
Total number						

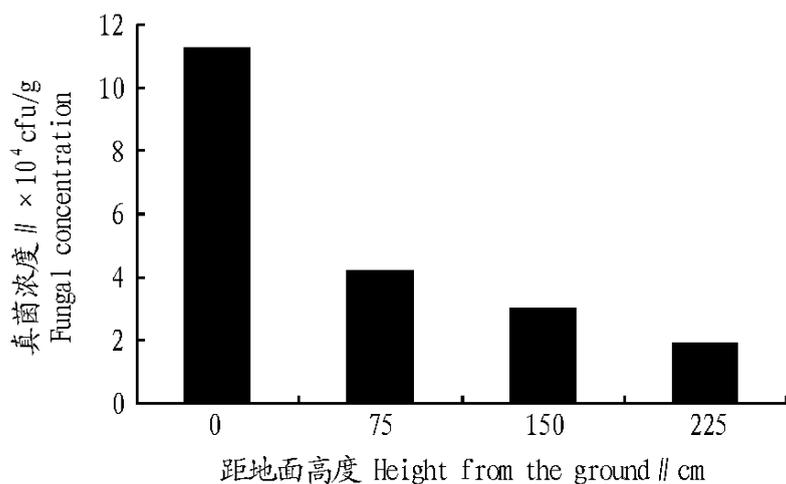


图1 鸡舍环境中积尘真菌浓度的垂直分布

Fig.1 The vertical distribution of fungal concentration in bulk dust in the environment of chicken house

3 讨论

(1) 研究共获得 15 类真菌, 其中有 8 类真菌未被鉴定, 镰孢菌总浓度范围在 $1.00 \times 10^2 \sim 8.03 \times 10^4$ cfu/g, 主要集中在地面高度, 说明其孢子颗粒较大, 不容易向上浮动。酵母菌总浓度范围在 $0.43 \times 10^4 \sim 1.19 \times 10^4$ cfu/g, 而且在各个高度都有较高的浓度, 说明其孢子颗粒较小, 容易上浮, 应该注意预防该菌。黄曲霉只在 75 cm 以下有分布, 说明其孢子颗粒大, 较易在环境底部生存。而木霉在 75 cm 以上有发现, 说明其孢子颗粒较小, 容易悬浮在空气中。在人的呼吸高度发现的真菌有黄曲霉、镰孢菌、酵母菌、木霉、黑曲霉、单头孢菌、根霉、黄球瘤孢菌等, 其中大部分为致病真菌, 对饲养员的健康造成一定威胁。因此, 饲养员在进行鸡舍的日常管理时要做好必要的保护工作。短帚霉、蜡叶芽枝霉、黄球瘤孢菌、单头孢菌、单孢菌、华根霉、青霉等的浓度较低, 但其中致病真菌较多, 虽然其浓度比较低, 但是如果不当控制鸡舍的环境, 在适宜的条件下, 它们也有可能大量繁殖从而对鸡舍安全造成威胁。

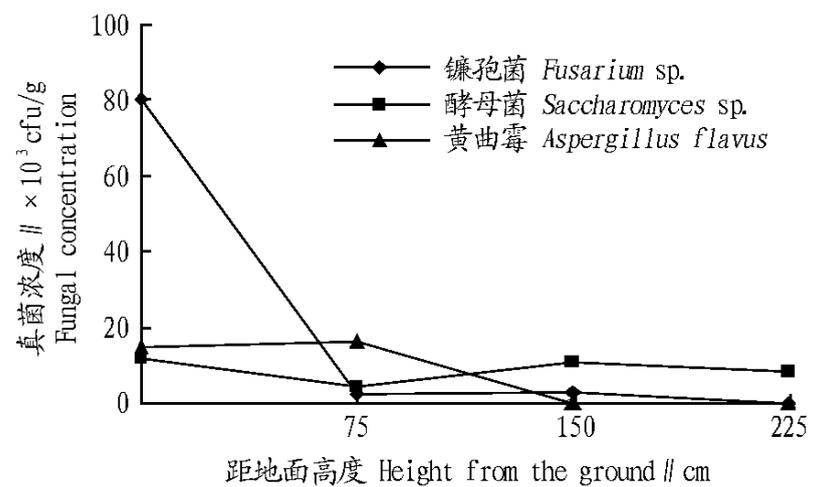


图2 鸡舍内积尘中优势真菌分布规律

Fig.2 The distribution laws of the dominant fungi in bulk dust in chicken house

(2) 试验采用了 2 种培养基, 即 PDA 和 RBC 培养基。PDA 为培养真菌最常用的培养基, 其 pH 值较低, 虽然能抑制全部细菌和放线菌的生长, 但同时也抑制了部分不耐酸真菌的生长, 而 RBC 为标准的真菌计数培养基, 常用于真菌计数。试验结果表明, 无论从分离的种类还是分离的数量来看, PDA 培养基的分离效果都要比 RBC 培养基好。

(3) 试验研究首次报道了鸡舍中积尘中真菌的组成, 尽管受采样样本数量的限制, 积尘真菌浓度可能与实际值之间有一定的误差, 但是积尘中分离到禽类病原真菌, 就已经能为鸡舍的卫生管理给予警示。研究发现真菌随着高度的增加而逐渐减少, 表明零高度以上的真菌都是来源于地面。虽然在 150 cm 高处真菌浓度已经相对减少, 但是也可能对饲养员的健康构成威胁, 因此饲养员在进行鸡舍的日常管理时要做好必要的保护工作, 例如戴口罩、手套等; 要做好日常的清洁工作, 减少鸡舍内积尘的含量, 并且加大鸡舍的湿度。有研究表明在鸡舍、医院和原野等地方的真菌浓度在傍晚时刻最高^[9-11], 因此清扫工作最好也选择傍晚, 加强通风可以降低鸡舍真菌的种群密度, 因此要改善鸡舍的通风设施。

参考文献

- 王雅玲, 柴同杰. 真菌气溶胶的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医学动物微生物学会第三届第七次学术研讨会论文集, 2004: 41 - 44.
- 张伟, 许俊杰, 张天宇. 土壤真菌研究进展 [J]. 菌物研究, 2005(2): 52 - 58.
- 梁晨, 吕国忠. 土壤真菌分离和计数方法的探讨 [J]. 沈阳农业大学学报, 2000(5): 515 - 518.
- 吕国忠, 孙晓东, 李贺. 东北地区保护地土壤真菌多样性的研究 [J]. 大连民族学院学报, 2006(1): 4 - 8.
- 孙鹤龄. 医学真菌鉴定初编 [M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- 叶世泰, 乔秉善, 路英杰. 中国致敏空气真菌学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1992.
- 王雅玲. 养殖环境真菌气溶胶及相关真菌毒素的检测 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.
- 高雄飞, 龙民生. 昆虫群落生态学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 77 - 103.
- 王雅玲, 吕国忠, 柴同杰. 鸡舍真菌气溶胶潜在危害的定量评估 [J]. 家畜生态学报, 2006(1): 66 - 72.
- FERMADO WG, MILLER J D, SEAMAN WL. Daily and seasonal dynamics of airborne spores of *Fusarium graminearum* and other *Fusarium* species samples over wheat plots [J]. Canadian Journal of Botany, 2000, 200(78): 497 - 505.
- RANEJ, PHNTER U, POEDER R. Biodiversity and concentration of airborne fungi in a hospital environment [J]. Mycotax, 2001, 149(2): 87 - 97.
- 王雅玲, 吕国忠, 柴同杰, 等. 鸡舍空气真菌浓度及多样性研究 [J]. 菌物学报, 2005, 24(4): 510 - 516.
- PENG HY, WANG YL, SUN LJ, et al. Quantitative study on the fusarium in chicken house environment [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(5): 102 - 105.