

鸡舍基质与空气中真菌定量分析

宋莉, 王雅玲*, 胡海锐, 彭红艳, 郭静, 吴迪 (大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连116600)

摘要 [目的] 揭示鸡舍空气与基质、基质与基质间的相关性。[方法] 采用曝皿法收集某养鸡场鸡舍内空气真菌, 从舍内4种基质(土壤、粪便、饲料、灰尘)采集23份样品进行分离、纯化和鉴定, 通过SPSS13.0软件分析不同样本中真菌浓度的相关性。[结果] 从样品中共获得2 229分离株。空气中真菌浓度是 1.12×10^4 cfu/m³, 其中优势真菌属为青霉属、酵母菌属和木霉属; 基质中总真菌浓度是 1.49×10^6 cfu/g, 其中土壤中优势菌为酵母菌, 灰尘中优势菌为镰孢菌和酵母菌, 粪便中优势菌为镰孢菌属和木霉属, 饲料中优势菌为镰孢菌、青霉属和木霉属。[结论] 空气与土壤、灰尘与粪便、灰尘与饲料、粪便与饲料的真菌浓度的相关性极大($P < 0.01$), 相关系数分别为0.838、0.944、0.923和0.933。对变量进行线性回归分析, 发现空气与土壤的真菌浓度相关性显著。

关键词 鸡舍; 空气; 真菌; 饲料; 粪便; 土壤; 灰尘

中图分类号 S831.4+5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)34-15002-02

Quantitative Analysis on Fungi in Air and Matrix in Chicken House

SONG Li et al (College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116605)

Abstract [Objective] The study was to reveal the relativity on the fungal concn. between the air and matrix and among the matrixes in chicken house. [Method] Airborne fungal samples in chicken house in a chicken farm were collected by culture plate of exposure and 23 samples were selected from 4 kinds of matrixes (soil, feces, feed and dust) for separation, purification and identification. The relativity of fungal concn. among different samples were analyzed by SPSS13.0 software. [Result] 2 229 isolates were obtained from 23 samples in lab in total. The concn. of airborne fungi was 1.12×10^4 cfu/m³ in which the most predominant fungal genera were Penicillium, Saccharomyces and Trichoderma. The total fungi concn. in matrix was 1.49×10^6 cfu/g, in which the predominant fungus was Saccharomyces in the soil, Fusarium and Saccharomyces in the dust, and Fusarium and Trichoderma in the feces, and Fusarium, Penicillium and Trichoderma in feed. [Conclusion] There was a great relativity on the fungal concn. between the air and soil, dust and feces, dust and feed, feces and feed ($P < 0.01$) with their correlation coefficients of 0.838, 0.944, 0.923 and 0.933 resp. The linear regression analysis on the variables showed that the relativity on the fungal concn. between air and soil was significant.

Key words Chicken house; Air; Fungi; Feed; Feces; Soil; Dust

鸡的真菌感染及其毒素中毒不仅使其产蛋量、免疫力下降, 器官功能障碍甚至中毒死亡等, 而且有毒代谢产物还会对禽类机体产生极强的致癌作用, 致使养禽业蒙受巨大的经济损失^[1]。研究人员发现镰孢菌可分泌烟曲霉等多种毒素, 可以降低家畜的耗料量, 导致生长下降、免疫抑制、繁殖障碍等, 在全球危害最大^[2]。木霉菌腐生性强、适应性广、生长和繁殖快, 可迅速利用营养和占据空间。有关试验结果表明, 绿色木霉菌对多种病原菌具有较强抑菌活性^[3]。笔者研究蛋鸡鸡舍基质(土壤、粪便、饲料、灰尘)和空气中真菌的种类、优势菌株以及浓度, 并对真菌属进行多样性分析与比较, 揭示鸡舍空气与基质、基质与基质间的相关性, 得出空气与基质的相关方程, 提出相应建议, 对禽类真菌病防治和从业人员的健康等都具有重要的理论和实际指导意义。

1 材料与方 法

1.1 鸡舍概况 选择大连某养鸡场鸡舍(海赛蛋鸡, 鸡龄为50~500 d)。鸡舍实行封闭式管理, 采取全进全出饲养方式, 使用自配饲料, 自动化送给饲料及流体除便, 温度为23~24℃, 湿度为62%~68%。饲养密度为37.78只/m²(3层立体笼养)。

1.2 采样 共采集土壤、粪便、饲料、灰尘4种基质样本, 装入新聚乙烯袋中, 编号, 将样本带回实验室进行真菌分离或保存在4℃冰箱中。选择曝皿法进行空气采样。9 cm普通玻璃平皿进行灭菌, 在无菌条件下加入一定量的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA: 马铃薯200 g, 葡萄糖20 g, 琼脂20 g, 蒸馏水1 000 ml)。采集3个高度的空气样本, 每个高度曝皿时

间分别为5、7 min。

1.3 真菌的分离、培养及鉴定

1.3.1 基质真菌分离。基质真菌分离培养基采用PDA培养基, 并采用梯度稀释法进行稀释^[3]。在无菌超净台中, 分别吸取 10^{-2} 、 10^{-3} 倍菌悬液0.1 ml滴于培养基平板上, 再倒入45~50℃的灭菌PDA培养基, 充分混匀。

1.3.2 真菌培养、鉴定及优势菌种判定。空气与基质培养皿置于25℃温箱中培养7 d, 计数并分离、纯化培养, 根据形态学显微特征进行鉴定^[4]。在原培养基上培养3 d, 未产生孢子的菌落若转种培养2周后仍未见孢子生成, 则列入无孢菌群, 简称无孢菌^[5]。

1.4 数据处理分析

1.4.1 鸡舍空气真菌浓度计算。鸡舍空气真菌属孢子浓度计算公式: $C_1 = L \times (N_1 \times 5000) / (A \times T)$ 。式中, C_1 为鸡舍空气真菌属孢子浓度(cfu/m³); N_1 为培养后每个培养皿生长的平均菌落数(cfu); A 为培养皿的表面积(m²); T 培养皿暴露于空气的时间(min); L 为校正系数, 计算方法参考文献[6]。

1.4.2 基质真菌浓度计算及回归分析。土壤、灰尘、粪便、饲料4种基质真菌属浓度计算公式: $C_2 = N_2 / \text{培养皿个数} \times \text{稀释倍数} \times 10$ 。式中, C_2 为鸡舍基质真菌属孢子浓度(cfu/g); N_2 为每种基质中真菌属总数。同时采用SPSS软件在2个或多个变量间进行相关分析及回归分析^[7]。

2 结果与分析

2.1 真菌种群 对采样环境中的23份样品进行分离培养和纯化, 共分离出2 229株菌株, 鉴定出真菌15个属(木霉属、青霉属、链格孢霉属、镰刀菌属、酵母菌、根霉属、曲霉属、外瓶霉属、轮枝孢属、漆斑菌属、瘤孢菌属、芽枝霉属、毛霉属、帚霉属、单头孢霉属)和14个真菌种(绿色木霉、串珠镰孢菌、岛青霉、马尔尼菲青霉、产黄青霉、黑曲霉、黄曲霉、巢构

基金项目 国家自然科学基金项目(30771584)。

作者简介 宋莉(1987-), 女, 内蒙古赤峰人, 本科, 专业: 生物工程。

* 通讯作者。

收稿日期 2008-09-22

曲霉、聚多曲霉、短帚霉、蜡叶芽枝霉、互隔链孢菌、黄球瘤孢菌、华根霉)。

2.2 鸡舍空气真菌分离株浓度 鸡舍空气中真菌浓度为 1.12×10^4 cfu/ m³。酵母属、青霉属和木霉属分离频率分别为 39.6%、23.4%、13.7%，为空气中优势真菌属^[8]，其真菌浓度分别为 $2.80 \times 10^3 \sim 6.09 \times 10^3$ 、 $1.89 \times 10^3 \sim 3.36 \times 10^3$ 、 $1.40 \times 10^3 \sim 1.68 \times 10^3$ cfu/ m³。

2.3 基质中优势真菌及浓度 土壤中优势菌为酵母菌属，分离频率为 72.9%，真菌浓度为 $0.84 \times 10^5 \sim 3.98 \times 10^5$ cfu/ g。灰尘中优势菌为镰刀菌属和酵母菌属，镰刀菌属的分离频率为 54.6%，真菌浓度为 $0.69 \times 10^5 \sim 3.70 \times 10^5$ cfu/ g；酵母菌属分离频率为 16.7%，真菌浓度为 $0.21 \times 10^5 \sim 1.15 \times 10^5$ cfu/ g。粪便中优势菌为镰刀菌属和木霉属，镰刀菌属的分离频率为 68.8%，真菌浓度为 $0.60 \times 10^5 \sim 5.00 \times 10^5$ cfu/ g；木霉属分离频率为 15.0%，真菌浓度为 $0.17 \times 10^5 \sim 0.80 \times 10^5$ cfu/ g。饲料中优势菌为镰刀菌属、青霉属、木霉属，镰刀菌属的分离频率为 53.8%，真菌浓度为 $0.43 \times 10^5 \sim 2.50 \times 10^5$ cfu/ g；青霉属的分离频率为 10.3%，真菌浓度为 $0.19 \times 10^5 \sim 0.90 \times 10^5$ cfu/ g；木霉属的分离频率为 10.9%，真菌浓度为 $0.04 \times 10^5 \sim 0.20 \times 10^5$ cfu/ g。同时还分离得到了少量的轮枝孢属、漆斑菌属、芽枝霉属与毛霉属真菌。

2.4 空气与 4 种基质的相关性分析 相关性分析结果表明：空气与土壤相关系数为 0.838， $P < 0.01$ ，空气与土壤相关性极大^[8]，其次是饲料、灰尘、粪便。4 种基质中，灰尘与粪便、灰尘与饲料、粪便与饲料真菌的相关系数分别为 0.944、0.923、0.933， $P < 0.01$ ，灰尘与粪便、灰尘与饲料、粪便与饲料真菌的相关性极大。

2.5 空气与 4 种基质的线性回归分析 对各变量进行逐步回归分析，得到 $y = 242.400 + 0.017 x_1$ (y 为空气真菌浓度， x_1 为土壤真菌浓度)。可见，空气与土壤的相关性显著。

3 讨论

(1) 采样点真菌含量最高的镰刀菌属在一定环境条件下产生毒素，引起人和畜禽中毒。该鸡舍的温度及湿度有利于镰刀菌属繁殖，有巨大的潜在危害。在空气、饲料与粪便中没有分离到单头孢霉属、轮枝孢属、漆斑菌属、瘤孢菌属、毛霉属、外瓶霉属，可能与木霉在空气、饲料与粪便中是优势菌有关。木霉作为生防菌以其生长速度快、产孢量大，能在植株、土壤中形成有效群体，在植物病理生物防治中具有重要的作用^[9]。

(2) 空气中的镰刀菌属分离频率仅为 1.90%，其浓度为 201.97 ~ 210.01 cfu/ m³。由相关性与回归分析可知，空气中的真菌大部分来自土壤。由于雏鸡舍采用自动化送料与流体除便，避免了饲料、粪便与土壤的接触，间接降低了空气中镰刀菌属的浓度。可见，自动化送料与流体除便对鸡的真菌病预防起到重要作用。灰尘与粪便、灰尘与饲料的相关系数极大，说明灰尘是真菌传递的重要媒介。所以，鸡舍应及时清理灰尘，专用一室或在室外配置饲料，预防真菌疾病。饲料是鸡舍真菌的主要来源之一，粪便的真菌主要也来自于饲料，要确保饲料原料质量，严禁用发霉变质的饲料原料。

(3) 对空气与 4 种基质的线性回归分析，得出了相关性显著的土壤和空气之间的线性回归方程。利用该方程，仅对相关性显著的基质进行采样、分离纯化、鉴定就可以得知空气真菌的浓度。不仅可以避免使用空气采样器等高价仪器、降低采样样本数量、减少工作量，而且还可以通过控制相关性显著的基质浓度，从而控制空气中真菌浓度，使空气中真菌浓度达到国家标准。研究得到的线性回归方程还需进一步完善，为以后研究提供借鉴。

参考文献

- [1] 王雅玲. 禽类真菌感染及其毒素中毒后免疫反应研究进展[J]. 大连民族学院学报, 2007, 9(5): 66-72.
- [2] 单妹, 许梓荣, 冯建蕾. 饲料中镰孢菌毒素的危害和控制[J]. 江西饲料, 2006, 27(5): 48-49.
- [3] 白晓穆, 刘志恒, 杨红, 等. 辽宁省烟田土壤真菌初步研究[J]. 河南农业科学, 2008(1): 61-63.
- [4] 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.
- [5] ROSAS I, CALDERON C, MARTINEZ L, et al. Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in Mexico City [J]. Aerobiologia, 1997, 13(1): 23-30.
- [6] 许钟麟. 沉降菌法和浮游菌法关系初探[J]. 中国公共卫生, 1993, 9(4): 160-162.
- [7] 张力. SPSS13.0 在生物统计中的应用[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2006: 104-136.
- [8] 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.
- [9] 王勇, 王万立, 刘春艳, 等. 绿色木霉 F9701 对多种病原菌的抑制作用及其抑病机理[J]. 中国农学通报, 2008, 24(1): 371-374.
- [10] 王静, 步长英, 孙瑞峰, 等. 规模化养鸡场鸡舍空气细菌含量检测[J]. 江西农业大学学报, 2007, 29(3): 429-433.
- [11] PENG HY, WANG YL, SUN LJ, et al. Quantitative study on the fusaiumin chicken house environment [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(5): 102-105.
- [12] 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, 27(1): 66-72.
- [13] 刘辰立. 大球盖菇母种培养基筛选试验[J]. 食用菌, 2000(6): 27-28.
- [14] 王升厚, 李玉双. 大球盖菇液体母种制备培养基碳氮源的优化[J]. 北方园艺, 2008(5): 219-221.
- [15] 陈少珍. 大球盖菇菌种制作技术要点[J]. 农业科技通讯, 2003(10): 18.
- [16] 刘跃钧, 郑文彪. 大球盖菇生料栽培模式研究[J]. 林业科技开发, 2004, 18(4): 37-38.
- [17] 陈雪凤. 大球盖菇母种培养基的筛选与液体制种研究[J]. 广西热带农业, 2005(1): 4-5.
- [18] 余冬芳, 樊卫国, 徐彦军, 等. 大球盖菇栽培技术研究进展[J]. 种子, 2007, 26(1): 84-87.

(上接第14943页)

- [8] 颜淑婉. 大球盖菇的生物学特性[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2002, 31(3): 401-403.
- [9] 张琪林, 王云. 大球盖菇液体培养碳氮营养源研究[J]. 食用菌, 2002(1): 6.
- [10] 刘胜贵, 吕金海, 刘卫今. 大球盖菇生物学特性的研究[J]. 农业与技术, 1999, 19(2): 19-22.
- [11] 刘本洪, 甘炳成, 彭卫红, 等. 透气性及低温处理对大球盖菇菌丝生长的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2004, 10(2): 246-248.
- [12] 房振田, 卜凡国. 大球盖菇高产栽培技术[J]. 山东蔬菜, 2008(2): 45-