

BOGNA BORKOWSKA-OPACKA, MARIAN TRUSZCZYNSKI

## Izolacja grzybów grupy *Aspergillus flavus* z przemysłowych mieszanek paszowych

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach

Celem badań było określenie częstości występowania diaspor grupy *Aspergillus flavus* w przemysłowych mieszankach paszowych. Podjęta tematyka łączy się z zagadnieniem profilaktyki mykotoksykoz u zwierząt. Ma ona szczególne znaczenie w związku z rozwijającą się obecnie w kraju przemysłową produkcją zwierzęcą. Brak jest natomiast krajowych badań na ten temat.

### Materiał i metody

Przedmiotem badań było 15 mieszanek paszowych przeznaczonych dla drobiu, 7 mieszanek przeznaczonych dla trzody chlewnej oraz jedna mączka śledziowa. Ogółem zbadano 23 próby, które wyszczególniono w tab. 1. Siedem spośród nich pochodziło z Magazynu Gospodarczego Instytutu Weterynarii, siedem z Przedsiębiorstwa Przetwórczego Przemysłu Paszowego „Bacutil” w Gdańsku, sześć z Zakładów Drobiarskich w woj. gdańskim i olsztyńskim oraz 2 próby z Przemysłowej Fermy Trzody Chlewnej w Kolbaczku. Mączkę śledziową otrzymano od portowego lekarza wet. w Gdyni.

Sposób przeprowadzania badań w kierunku wykrywania obecności *Aspergillus flavus*. Z próbki paszy o wadze około 500 g, po dokładnym wymieszaniu, pobierano 10 g do jałowej kolbki z doszlifowanym korkiem i zalewano 90 ml płynu fizjologicznego z 0,2% dodatkiem Tweenu 80. Po 15-minutowym wstrząsaniu rozcieńczenia podstawowego 1:10 przygotowywano dalsze rozcieńczenia od 1:100 do 1:100 000 przy współczynniku rozcieńczeń równym 10. Następnie z każdego rozcieńczenia wkraplano po 1 ml na dno 3 płytek Petriego. Płytki zalewano 20 ml rozpuszczonego i oziębionego do około 40°C agaru Czapska. Zawartość każdej płytki dokładnie mieszano i pozostawiano w położeniu poziomym aż do zastygnięcia agaru. Posiewy inkubowano w temperaturze 28°C w ciągu 7 dni. Kolonie, które makroskopowo przypominały *Aspergillus flavus*, przesiewano na płytki, a następnie na skosy z podłożem Czapska i przechowywano do dalszych badań w temperaturze 4°C.

Na podstawie badań mikroskopowych oraz mikrohodowlanych przeprowadzono identyfikację wyizolowanych grzybów w oparciu o klasyfikację ogólną Smitha (5). W ramach tej klasyfikacji oznaczano przynależność wyosobnionej pleśni do rodzaju *Aspergillus* oraz do grupy *flavus*. Następnie określano przynależność gatunkową poszczególnych szczepów wg klucza podanego przez Rapera i Fennell (4).

### Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki zestawiono w tab. 1.

Jak wynika z tab. 1, obecność pleśni grupy *Aspergillus flavus* wykazano w 13 próbkach, co stanowi 56,5% wszystkich prób badanych. Diaspory poszukiwanego grzyba stwierdzono w 53,3% mieszanek przeznaczonych dla drobiu oraz w 57,1% mieszanek przeznaczonych dla trzody chlewnej. Znalezione go również w mączce śledziowej.

W analogicznych badaniach przeprowadzonych przez Lafond-Grellety (3) we Francji obecność grzybów *Aspergillus* grupy *flavus* wykazano w 60% mieszanek paszowych przeznaczonych dla świń oraz 56% mieszanek drobio-

Tab. 1. Występowanie pleśni grupy *Aspergillus flavus* w paszach

Rodzaj paszy	Liczba badanych próbek	Liczba próbek dodatnich <sup>*)</sup>
<i>Nieszanki dla drobiu</i>	15	8
w tym:		
D	2	-
DK	2	2
DKA - starter	5	4
DKA - finisz	6	2
<i>Mieszanki dla trzody chlewnej</i>	7	4
w tym:		
P	3	2
T	2	2
pełnoporcjowa z kolbaczka	2	-
<i>Mączka śledziowa</i>	1	1
<b>Razem</b>	<b>23</b>	<b>13</b>

Objaśnienie: \*) = liczba próbek, w których stwierdzono obecność grupy *A. flavus*.

wych. W Związku Radzieckim Kolesowa (2) oznaczala stopień rozprzestrzenienia w paszach toksycznych gatunków grzybów rodzaju *Aspergillus*. Autorka zbadala 85 próbek różnych pasz, w tym 17 mieszanek paszowych i stwierdziła *Aspergillus* grupy *flavus* w 62 paszach, z których 12 stanowiły mieszanki paszowe. Z kolei Kahlau (1) wykazał diaspory wymienionej pleśni w 25% mieszanek paszowych poddanych analizie mykologicznej.

Tab. 2. Gatunki pleśni grupy *Aspergillus flavus*, których obecność wykazano w paszach, określone wg Rapera i Fennell

Gatunek pleśni <i>Aspergillus</i> grupy <i>flavus</i>	Liczba mieszanek, w których wykazano obecność danego gatunku
<i>A. flavus</i>	10
<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i>	-
<i>A. parasiticus</i>	-
<i>A. oryzae</i>	2
<i>A. oryzae</i> var. <i>effesus</i>	1
<i>A. zonatus</i>	-
<i>A. clavato-flavus</i>	-
<i>A. tamari</i>	3
<i>A. flavo-furcatis</i>	-
<i>A. subolivaceus</i>	-
<i>A. avenaceus</i>	-

Tab. 2 przedstawia przynależność gatunkową wyosobnionych szczepów.

Wśród wyizolowanych szczepów najczęściej, bo aż 10-krotnie stwierdzonym gatunkiem oka-

zał się *A. flavus*. Zidentyfikowano również 3-krotnie *A. tamari*; 2-krotnie *A. oryzae*. Jeden szczep oznaczono jako *A. oryzae var. effesus*.

W dwóch przypadkach stwierdzono w tej samej mieszance zarówno *A. flavus* jak też *A. tamari*. Natomiast z jednej mieszanki wyosobniono *A. flavus* i *A. oryzae var. effesus*.

Z przeprowadzonych badań wynika, że występowanie pleśni *Aspergillus* grupy *flavus* w przemysłowych mieszankach paszowych w kraju jest stosunkowo częste. Wśród wymienionej grupy często też występuje gatunek *flavus*. Natomiast zatrucia u zwierząt, powodowane przez aflatoksynę wydają się być stosunkowo rzadsze w porównaniu do wykazania w przemysłowych mieszankach paszowych obecności *A. flavus*. Taki stan rzeczy należy tłumaczyć bądź faktem, że nie wszystkie szczepy *A. flavus* zdolne są do wytwarzania aflatoksyny, bądź też brakiem warunków do produkcji tej substancji takich jak odpowiednio wysoka temperatura, znaczna wilgotność i właściwy substrat, umożliwiające odpowiedni w tym względzie metabolizm wymienionej pleśni.

#### Wnioski

1. Spośród 23 badanych prób przemysłowych mieszanek paszowych w 13 wykazano *Aspergillus* grupy *flavus*.

2. Wśród 13 przedstawicieli grupy *flavus* 10 szczepów było *A. flavus*, 3 okazały się *A. tamari*, 2 określono jako *A. oryzae* i 1 jako *A. oryzae var. effesus*.

#### Piśmiennictwo

1. Kahlau D. J.: Zur Problematik des Mykotoxinnachweises in Mischfutter. Praca doktorska. München 1973.
2. Kolesowa L. S.: Trudy WNIWS 23, 230, 1964.

3. Lafond-Grellety J.: Econ. Méd. anim. 13, 223, 1972.
4. Raper K. B., Fennel D. J.: The genus *Aspergillus*. Williams-Wilkins Co-Baltimore, 1965.
5. Smith G.: An introduction to industrial mycology. 6th edition, Edward Arnold, 1971.

Adres autora: dr Bogna Borkowska-Opacka, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy.

Борковска-Опацка Б., Труциньски М. — Выделение грибов группы *Aspergillus flavus* из кормовых концентратов.

Провели микологический анализ 23 образцов кормов, в том числе 15 кормовых концентратов для птиц, 7 кормовых концентратов для свиней и одного образца муки из сельдей. Наличие плесени *Aspergillus* группы *flavus* констатировали в 13 образцах, что составляет 56,5% всех исследованных проб. Изолированные культуры подвергли видовой классификации по определителю Ропера и Фенелл при помощи микроскопических исследований и микрокультур. Чаще всего т.е. в десяти случаях обнаружили вид *Aspergillus flavus*. Кроме того идентифицировали *A. tamari* (3 раза), *A. oryzae* (2 раза) и *A. oryzae var. effesus* (1 раз).

Borkowska-Opacka B., Truszczyński M. — Isolation of fungi belonging to *Aspergillus flavus* group from industrial feed mixtures.

The purpose of these investigations was to determine the frequency of incidence of moulds belonging to *Aspergillus flavus* group in industrial feed mixtures. Mycological examinations were carried out with 23 various feed mixtures, including 15 feed mixtures destined for poultry, 7 mixtures for pigs and one sample of herring meal. Moulds of the *Aspergillus flavus* group were found in 13 samples (56.5 per cent). The isolated mould strains were classified into species on the basis of microscopic and microcultural examinations, using the key of Raper and Fennel. Most frequently isolated species was *A. flavus* (10 isolates). Other identified species were *A. tamari* (3 isolates), *A. oryzae* (2 isolates) and *A. oryzae var. effesus* (1 isolate).

GIBSON T. E., PARFITT J. W.: Rozwój odporności na *Trichostrongylus colubriformis* u jagniąt w warunkach ciągłego zakażenia. (The development of resistance to *Trichostrongylus colubriformis* in lambs under conditions of continuous infection). Res. vet. Sci. 15, 220—223, 1973 (2).

Jagnięta rasy Dorset Horn w wieku 11—16 tygodni zakażano przez 5 kolejnych dni tygodnia 2000 larwami zakaźnymi *Trichostrongylus colubriformis*. W odstępach tygodniowych określano ilość jaj wydalanych z kałem oraz tygodniowe przyrosty wagowe. Ponadto u jagniąt poddanych ubojowi po 5, 10, 20, 25, 30, 35, 40 i 45 tygodniach po zakażeniu określano ilość dojrziałych i niedojrziałych postaci pasożytów w jelicie cienkim. U jagniąt poddanych ubojowi między 5—20 tygodniem po zakażeniu ilość pasożytów w treści jelit cienkich wzrastała, a następnie wykazywała stały spadek. W podobny sposób zmieniała się ilość jaj pasożytów w kale. Jagnięta zakażone traciły na wadze przez pierwsze 20 tygodni po zakażeniu. Zaobserwowane zmiany autorzy wiążą z powstaniem odporności u jagniąt. Odporność która rozwija się 30 tygodnia po zakażeniu hamuje w sposób istotny płodność samiec *T. colubriformis*.

G.

BUSER J. C.: Lipidy i cholesterol u psów zdrowych i chorych. (Les lipides et la cholestérine chez les chiens en bonne santé et le chien malade). Schweiz. Arch. Tierheilk. 116, 21—30, 1974 (1).

Całkowity poziom lipidów określano przez okres 4 i 9 tygodni na psach zdrowych i psach chorych. Badanie 72 próbek surowicy wykazało, że średni poziom lipidów całkowitych wynosił 1071 mg/100 ml przy odchyleniu standardowym 275 mg/100 ml, zaś cholesterolu  $200 \pm 50$  mg/100 ml. U psów z objawami zatrucia, niewydolnością krążenia, niedokrwistością, białaczką, chorobami pęcherza żółciowego i prostaty poziom lipidów całkowitych w surowicy wynosił średnio 144—2350 mg/100 ml. Ropnym zapaleniom macicy towarzyszył wzrost poziomu lipidów (1520—2205 mg/100 ml) i cholesterolu (do 500 mg/100 ml). W przypadkach hipertyreoz (hypercholesteremii i hyperlipidemii) stężenie lipidów całkowitych wahało się w granicach 672—100 mg/100 ml. W syndromach nefrotycznych wzrostowi poziomu lipidów (1690—2160 mg/100 ml) towarzyszył wzrost poziomu cholesterolu (320—450 mg/100 ml), oraz wzrost poziomu beta-lipoprotein. Silny wzrost stężenia lipidów obserwowano u psów chorych na cukrzycę (1600—3500 mg/100 ml).

G.