

УДК 636.085.3:619:616.992.28

© 2011

*Мельник О. В., аспірант\**

Полтавська державна аграрна академія

## МОНІТОРИНГОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ КОРМІВ НА НАЯВНІСТЬ ГРИБІВ РОДУ ASPERGILLUS

*Рецензент – кандидат ветеринарних наук О. О. Міланко*

*Проведено мікотоксикологічні дослідження 128 зразків різних кормів із птахогосподарств Полтавської області. Всього ідентифіковано 161 штам грибів, з яких ізольовано 32 штами із роду *Aspergillus*, що становить 19,88 %. У результаті мікологічних досліджень кормів виділено мікроскопічні гриби видів *A. flavus* та *A. fumigatus*. У процесі визначення токсичності вражених кормів шляхом біопроб на кролях та на тест-об'єкті *Colpoda stenii* встановлено 22 слаботоксичних штами грибів із роду *Aspergillus*, причому найбільше їх виявилось в комбікормі (*A. fumigatus*). Описані методики, за допомогою яких проводилися дослід.*

**Ключові слова:** аспергильоз, птиця, корм, гриби, мікотоксини, штам, токсичність, біопроба, моніторинг.

**Постановка проблеми.** Зі збільшенням виробництва м'яса та яєць вирішальне значення має птахівництво як галузь вискоєфективного тваринництва, що забезпечує населення продуктами харчування високої харчової цінності, дієтичних властивостей та добрих смакових якостей. Птахівнича галузь на сьогодні залишається однією зі складових агропромислового комплексу і є реальним джерелом накопичення ресурсів у державі [9]. Нині спрямовано проводяться роботи по покращанню технології виробництва. На птахівничих господарствах і підприємствах забезпечення доброякісними кормами вважається таким же важливим, як і забезпечення обладнанням, параметрами оптимального мікроклімату, вентиляційних систем та ін. До того ж збільшення затрат на його покращання економічно виправдовує себе більше, ніж додаткові затрати на усунення захворювань інфекційної та неінфекційної етіології, в тому числі й грибкових, що можуть виникнути внаслідок згодовування недоброякісними кормами [6].

**Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми.** Як свідчить аналіз, причиною такого стану є не-

дотримання технології вирощування сільськогосподарських культур, порушення процесу заготівлі та умов зберігання кормової бази. Це сприяє широкому розповсюдженню мікроскопічних грибів і високій частоті виділення їх у кормах рослинного походження. До ветеринарних аспектів означеної проблеми відноситься захист тварин від надходження в їх організм чужорідних, найбільш небезпечних речовини, що можуть потрапляти до організму тварин через забруднений корм. Токсигенні плісняві гриби та їх метаболіти, уражуючи корми, викликають у тварин та птиці комплексні отруєння різного ступеню тяжкості – від гострих до хронічних. При цьому відмічають зниження природної резистентності та імунного статусу. В результаті отримуємо зменшення продуктивності, погіршення санітарної якості продукції [7]. Звідси неабияке значення має забезпечення тваринництва якісним фуражним зерном, Передусім потрібно звертати увагу на зерно, що закладається на тривале зберігання з подальшим його використанням. Ступінь колонізації зерна мікроміцетами при зберіганні залежить від умов навколишнього середовища, температури, вологості та концентрації кисню й вуглекислого газу. Окремі види й популяції мікроскопічних грибів при одночасному ураженні зерна злакових культур можуть змінювати характер вегетативного розвитку та рівень біосинтезу мікотоксинів. Тому деякі автори рекомендують систематично проводити мікологічний аналіз зерна [1, 4].

**Мета досліджень та методика їх проведення.** Метою даної роботи було вивчити розповсюдження грибів роду *Aspergillus* на зернових фуражних культурах, грубих кормах, а також підстильці, встановити їх видову належність, токсигенні характеристики та здатність продукувати мікотоксини.

Дослідження проводилися з січня по серпень 2009 року в умовах хіміко-токсикологічного відділу Регіональної ДЛВМ у Полтавській області.

\* Керівник – кандидат ветеринарних наук С. Б. Передера

У роботі використовували проби кормів (зерно пшениці та кукурудзи, зерноsumіші, дерть, макуху, шрот, комбікорми, висівки, солому), що надходили з різних типів господарств, у т. ч. і з птахогосподарств Полтавської області (СТОВ «Полтавське ІПП», СВК «Полтава-інкубатор», ТОВ «Полтавське сонечко», ЗАТ «Полтавська птахофабрика»).

Мікологічні дослідження кормів проводили згідно з методичними вказівками щодо санітарно-мікологічної оцінки та поліпшення якості кормів, затвердженими Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства АПК України № 15-14/73 від 06 березня 1998 року; ДСТУ 3570-97.

Зараження зерна може бути поверхневим (заспореним) і глибинним. Тому ми провели посів як необробленого, так і обробленого зерна 3 % розчином формальдегіду при експозиції 1,5–2 хвилини. Його розкладали в чашки Петрі на поверхню агаризованого середовища Чапека по 10 шт. так, аби вони не торкалися одне одного.

Виділення грибів із концентрованих кормів та комбікормів здійснювали шляхом посіву їх суспензії. В 10 г сипкого корму вливали 100 мл дистильованої води, струшували 15–20 хв, одержали основне розведення 1:10, з якого готують розведення 1:100, 1:1000, 1:10000 (ступінь розведення залежить від вмісту в досліджуваному кормі спор грибів). Для посіву використовували суспензію в розведенні 1:1000 (корм із нормальними органолептичними показниками) та розведення 1:10000 (пошкоджений корм), не даючи їй відстоятися. До того ж 1 см<sup>3</sup> її рівномірно розподіляли по всій поверхні живильного середовища.

Солому стерильними ножицями нарізали шматочками (близько 2 см) у стерильну чашку Петрі; далі переносили на поверхню агару Чапека по 10 шматочків так, аби вони не торкалися

один одного. Підстилку (солому) стерильними ножицями нарізали шматочками довжиною близько 2 см у стерильну чашку Петрі. Нарізаний матеріал стерильним пінцетом переносили на поверхню агару Чапека по 10 шматочків.

Термін культивування – різний, у залежності від роду та виду гриба, до утворення характерного спороношення. Чашки Петрі з посівами, завернуті в стерильний пергаментний папір, поміщали в термостат і витримували при температурі від 22 до 27 °С. Із метою виділення чистої культури через 3–5 днів робили пересів колоній, що проросли, й інкубували при t 22–27 °С. Колонії грибів пересівали на скошений агар Чапека з подальшим інкубуванням.

Для ідентифікації грибів проводили мікроскопічне дослідження з попереднім приготуванням препарату із маленьких частинок міцелію зі спороношенням, розмістивши матеріал на предметне скло у краплі 10 % розчину їдконого натру або в роздавленій краплі.

При цьому розглядали колонії та місця їх росту, враховуючи колір, форму, консистенцію колоній, характер росту, ступінь розвитку повітряного міцелію на основі культурально-морфологічних властивостей із використанням визначальників грибів [1–3, 8].

Токсичність визначали на тест-культурі *Colpoda stenii* [5] та шляхом біопробы на лабораторних тваринах [3, 9].

**Результати досліджень.** У процесі мікотоксикологічного дослідження 128 зразків кормів було ізольовано та ідентифіковано 161 штам грибів. Мікобіота кормів представлена мікроміцетами таких родин: *Mucor* – 31,6%; *Aspergillus* – 19,88%; *Penicillium* – 17,9%; *Alternaria* – 17,39%; *Rhizopus* – 11,8%; *Fusarium* – 3,73%; *Stahyobotrys aitemans* – 0,62% (табл. 1).

**1. Моніторингове мікотоксикологічне дослідження кормів**

Рід	Зерно фуражне		Висівки		Дерть		Комбі-корм		Макуха та шрот		Сіно		Солома		Всього	
	кількість	%	кількість	%	кількість	%	кількість	%	кількість	%	кількість	%	кількість	%	кількість	%
<i>Aspergillus</i>	8	18,6	5	26,3	3	15,8	11	52,38	-	-	1	4,35	4	12,13	32	19,88
<i>Fusarium</i>	3	6,99	1	5,26	1	5,26	-	-	-	-	1	4,35	-	-	6	3,73
<i>Stah. alternans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3,03	1	0,62
<i>Penicillium</i>	6	13,95	2	10,54	3	15,8	3	14,29	-	-	3	13,04	7	21,21	24	17,9
<i>Mucor</i>	13	30,23	5	26,3	8	42,1	2	9,52	2	66,7	10	43,48	11	33,33	51	31,68
<i>Rhizopus</i>	6	13,95	3	15,8	-	-	2	9,52	-	-	3	13,04	5	15,15	19	11,8
<i>Alternaria</i>	7	16,28	3	15,8	4	21,05	3	14,29	1	33,3	5	21,74	5	15,15	28	17,39
Всього:	43	100	19	100	19	100	21	100	3	100	23	100	33	100	161	100

2. Видовий склад і токсичність виділених ізолятів грибів роду *Aspergillus* у кормах

Корми	Всього досліджено зразків	Зразки, вражені грибами роду <i>Aspergillus</i>	Гриби роду <i>Aspergillus</i>					
			<i>A. fumigatus</i>			<i>A. flavus</i>		
			токсичний	слаботоксичний	нетоксичний	токсичний	слаботоксичний	нетоксичний
Зерно фуражне	34	8	-	2	2	1	1	2
Висівки	5	5	-	2	-	-	3	-
Дерт	12	3	-	-	1	-	1	1
Комбікорм	28	11	-	6	3	-	4	1
Макуха та шрот	13	-	-	-	-	-	-	-
Сіно	18	1	-	-	-	-	-	1
Солома	18	4	-	1	-	-	2	1
Усього:	128	32	-	11	5	1	11	4

У результаті проведених досліджень встановлено, що гриби роду *Aspergillus* нараховують вагомий відсоток, порівняно з іншими мікроскопічними грибами. До того ж ця закономірність спостерігається серед різних видів кормів.

Усього виділено 32 штами грибів роду *Aspergillus*, що становить 19,88 %. Найбільше ізолятів указаних вище грибів виділено з комбікормів – 11 (52,38 %) та із зерна фуражного – 8 (18,6 % у порівнянні з іншими мікроскопічними грибами). Рідше від інших штамів роду *Aspergillus* були ізольовані з дерти та сіна – 3 (15,8 %), 1 (4,35 %) відповідно. Жодного разу цей штам не був виділений із макухи (шроту) соєвого чи соняшникового (табл. 1).

Із даних таблиці 2 бачимо, що зараженість 32 зразків корму з 128 досліджуваних представлена видами *A. fumigatus* та *A. flavus*.

Із 34 зразків зерна фуражного 8 були вражені грибами роду *Aspergillus*:

*A. fumigatus* – 4 (2 – слаботоксичні, 2 – з поверхневим враженням зерна), *A. flavus* – 4 (1 – токсичні, 1 – слаботоксичний, 2 – з поверхневим враженням зерна). З 5 зразків висівок всі вражені грибами роду *Aspergillus*: *A. fumigatus* – 2 (слаботоксичні), *A. flavus* – 3 (слаботоксичні). З 12 зразків дерти 3 зразки вражені грибами роду *Aspergillus*: *A. fumigatus* – 1 (з поверхневим враженням), *A. flavus* – 2 (1 – слаботоксичний, 1 – з поверхневим враженням). З 25 зразків комбікорму 11 із них виявилися враженими грибами роду *Aspergillus*: *A. fumigatus* – 6 (3 – слаботоксичні, 3

– з поверхневим враженням), *A. flavus* – 5 (4 – слаботоксичні, 1 – з поверхневим враженням). З 18 зразків соломи 4 з них вражені грибами роду *Aspergillus*: *A. fumigatus* – 1 (слаботоксичний), *A. flavus* – 3 (2 – слаботоксичні, 1 – із поверхневим враженням). Із 18 зразків сіна один із них вражений грибами роду *Aspergillus* – *A. flavus* (із поверхневим враженням).

За отриманими результатами можна констатувати, що токсичних штамів грибів роду *Aspergillus* не виявлено. Зі слаботоксичними властивостями виділено 22 штами; найбільше їх виявилось в комбікормі (*A. fumigatus*), найменше в соломі (*A. fumigatus*) та в дерті (*A. flavus*). Нетоксичних виділено 9 штамів; із макухи та шроту не виділено жодного штаму грибів роду *Aspergillus*.

Тому з метою профілактики мікотоксикозів необхідно проводити моніторингові дослідження кормів на наявність мікроскопічних пліснявих грибів.

**Висновки:** 1. Виявлена найбільша зараженість кормів міксоміцетами роду *Mucor* – 31,6 %.

2. Гриби роду *Aspergillus* становлять 19,88 % серед інших мікроскопічних грибів, виділених із досліджуваних зразків. Найчастіше ізоляти цього роду висівали з комбікорму (були слаботоксичними) та зерна фуражного.

3. Заражені зразки грибами роду *Aspergillus* представлені видами *A. fumigatus* та *A. flavus*.

4. Токсичність грибів роду *Aspergillus* не встановлена в жодному зразку.

**БІБЛІОГРАФІЯ**

1. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л., 1962. – 180 с.  
2. Деякі теоретичні питання мікоценології / Дудка І. О., Сміцька М. Ф., Смик Л. В. [та ін.] /

Український ботанічний журнал – 1976. – 33, №1. – С. 12–20.

3. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці і поліпшенню якості кормів / Образжой А. В., Погрібняк Л. І., Корзуненко О. Ф.

- [та ін.]. – К.: Вид-во Інституту вет. медицини та Центральної державної лабораторії вет. медицини Міністерства АПК України. – 1998. – 107 с.
4. Мікотоксикологічний моніторинг концентрованих кормів Лісостепу України / О. Малінін, О. Куцан, Г. Шевцова [та ін.]. // Тваринництво України. – 2003. – № 12. – С. 26–28.
5. Міжнародний стандарт. Зерно фуражне, продукти його переробки, комбікорми. Метод визначення токсичності ДСТУ 3570-97 (ГОСТ 13496.7-97). Затверджений 28.02.98. – Уведений в дію 01.07.99 р.
6. Папазян Р. Микотоксины: экономический риск и контроль / Папазян Р. Животноводство России. – 2002. – №7. – С. 16–20.
7. Петрович С. В. Микотические заболевания животных. – М.: Россельхозиздат, 1982. – 53 с.
8. Саттон Д., Фотергил А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. – М.: Мир, 2001. – 467 с.
9. Харченко С. Н. Методичні рекомендації по діагностиці, профілактиці та боротьбі з аспергильозами та аспергилотоксикозами птиці. – К.: Українська с/г академія. – 1982. – 18 с.