

对虾中 T-2 毒素的残留规律及其对雄性小鼠的遗传毒性效应

吴朝金¹, 莫冰², 王雅玲¹, 黄展锐¹, 何婉莹¹, 苏静怡¹, 徐德峰¹, 孙力军¹

(1. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088) (2. 广西壮族自治区产品质量监督检验研究院, 广西南宁 530071)

摘要: 研究了对虾中 T-2 毒素急性暴露的残留规律, 并探明其对雄性小鼠的遗传毒性效应。实验以 LC-MS/MS 检测肌肉注射染毒后, 对虾中 T-2 毒素残留量, 并经灌胃, 检测毒虾中 T-2 毒素对小鼠遗传毒性的危害。结果发现, 对虾中游离态 T-2 毒素的残留量与暴露剂量呈正相关, 表现蓄积性, 并且不同组织的蓄积量差异较大, 以肌肉中含量最低, 接近于零。经毒虾灌胃后, 小鼠的精子畸形率及微核率也随暴露剂量逐渐增大。与对照组相比, 高剂量灌胃组的小鼠精子畸形率和微核率出现显著性变化 ($P < 0.05$), 高剂量组的四个对虾组织都具有毒性, 其中对虾肌肉和肝胰腺的毒性最强, 其次为肠道。表明 T-2 毒素在对虾体内具有隐蔽性, 特别是在肌肉中, 游离态 T-2 毒素易于被转化为隐蔽态 T-2 毒素, 从逃避检测, 并产生二次危害隐患。

关键词: 对虾; T-2 毒素; 雄性小鼠; 精子畸形; 微核

文章编号: 1673-9078(2015)2-1-6

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.2.001

Patterns of T-2 Toxin Residue in Prawns and Its Subsequent Effect on Genes in Male Mice

WU Chao-jin¹, MO Bing², WANG Ya-ling¹, HUANG Zhan-rui¹, HE Wan-ying¹, SU Jing-yi¹, XU De-feng¹, SUN Li-jun¹

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China) (2. Guangxi Zhuang Autonomous Region, Product Quality Supervision and Inspection Institute, Nanning 530071, China)

Abstract: This study examined the pattern of T-2 toxin residue in prawns following acute exposure, and the genetic alterations in mice following administration of the poisoned prawns. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to detect the content of residual T-2 toxin in prawns after intramuscular injection. The mice were administered the poisoned prawns by gavage. The results showed that the content of free T-2 toxin in prawns positively correlated with its increasing dose. T-2 toxin appeared to have accumulated in the prawns, and the amounts were significantly different among the various organs. The lowest content of free T-2 toxin was found in muscle; T-2 toxin content was close to zero. The sperm deformity and micronucleus rate of mice gradually increased with an increase in the exposure dose, compared to the control group ($P < 0.05$). The four organs of the prawns in the high dose group were toxic to the mice, and the toxicity levels were the highest in the muscles and hepatopancreas, followed by the intestinal tract. The results indicated that T-2 toxin in prawns could be easily concealed, especially in the muscle, where free T-2 toxin is converted to masked T-2 toxin. As a result, T-2 toxin could remain undetected, resulting in secondary harm to other organisms.

Key words: prawn; T-2 toxin; male mice; sperm deformity; micronucleus

收稿日期: 2014-07-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171634, 31371777)

作者简介: 吴朝金(1987-), 男, 主要从事海洋微藻 DHA、ARA 研究, 水产品质量与安全研究以及仪器分析

通讯作者: 王雅玲(1965-), 女, 博士, 教授, 主要从事水产品质量与安全研究; 孙力军(1965-), 男, 博导, 教授, 主要从事水产品质量与安全研究

T-2 毒素是单端孢霉烯族毒素中的典型代表, 具有三环骨架的单端孢霉烯的母体结构, 属倍半萜烯类化合物。其化学名称为 4,15-二乙酰氧基-8-(异戊酰氧基)-12,13-环氧单端孢霉-9-烯-3-醇, 分子式为 $C_{24}H_{34}O_5$, 分子量为 466.22^[1]。T-2 毒素是 A 类单端孢霉烯族真菌毒素中毒性最强^[2]的一种, 在 1973 年被联

联合国粮农组织 (FAO) 和世界卫生组织 (WHO) 确定为天然存在的最危险的食物污染源之一。

T-2 毒素作为镰孢菌次生代谢产物中毒性最强的毒素, 性质稳定, 不容易清除, 其主要危害动物的造血组织和免疫器官, 造成白细胞减少, 胃肠道功能受损^[3], 并有明显的致畸性和致突性^[3]。T-2 毒素广泛存在于谷物和谷类食品中, 并以玉米、小麦、大麦、燕麦和黑麦受 T-2 毒素的影响最为严重, 误食污染的谷物或者饲料会造成机体急性或慢性的中毒^[4-6]。其中对虾所受危害正开始逐渐为人们所认识。T-2 毒素易于在甲壳类动物体内蓄积形成危害^[7-8], 已有研究发现, 白虾与黑虎虾暴露于 1.0~2.0 mg/kg m_b T-2 毒素 8~10 周后其肝胰腺组织均出现红肿、严重萎缩、退化以及与淋巴和造血组织明显分离现象^[9]。课题组前期实验发现, 肌肉注射染毒的对虾中 T-2 毒素的半衰期只为 9.64 min, 而依此半衰期进行注射蓄积染毒实验, 却发现对虾体内游离态 T-2 毒素含量远低于预期值, 并且达到高剂量后, 对虾开始出现大量死亡。T-2 毒素在对虾体内作用模式复杂, 为一黑箱物质, 可能存在隐蔽态 T-2 毒素, 极大可能存在蓄积性, 并可产生二次危害, 但目前有关对虾中 T-2 毒素的危害识别还未见研究报道。因此, 我们有必要对染毒对虾体内 T-2 毒素对机体可能产生的危害进行研究。本实验通过养殖和制备注射不同剂量 T-2 毒素的凡纳滨对虾不同组织匀浆液灌胃小鼠, 并检测小鼠精子畸形率和小鼠骨髓嗜多染红细胞微核出现率, 以期识别染毒对虾的毒性部位及对小鼠可能产生的遗传毒性, 为研究对虾体内 T-2 毒素潜在危害提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

对虾使用凡纳滨对虾, 又名南美白对虾, 采自湛江东海岛广东海洋大学养殖基地, 平均虾重 5 ± 0.5 g。

95% 乙醇; 吉姆萨工作液; 初胎牛血清; 伊红染液; 无水甲醇, 以上试剂均由广州齐云公司提供。T-2 毒素标准品 (Enzo, USA, 纯度 $\geq 98\%$)。

1.2 仪器与设备

CO₂ 培养箱, 美国 Thermo 公司; 恒温水浴锅, 上海博讯实业有限公司; 电子天平, 北京赛多利斯天平有限公司; 电子显微镜, 日本 Olympus 公司。

1.3 给药方式

将对虾随机分组, 每组 20 尾, 低、中、高剂量 (3、

6 和 9 mg/kg m_b) T-2 毒素肌肉注射染毒对虾, 分别取对虾不同组织 (虾仁, 虾肠, 虾肝胰腺, 虾血) 制备匀浆液。

将 96 只 SPF 级雄性昆明小鼠 (广东省实验动物中心提供 (许可证号: SCXK(粤)2008-0002))。随机分为对照、低剂量染毒虾、中注射染毒虾和高剂量染毒虾灌胃 4 大组, 在将 4 大组分别分为灌胃肌肉、虾肠、肝胰腺和虾血 4 小组。利用染毒对虾不同组织匀浆液灌胃小鼠, 以 5 g/kg 体重剂量两次经口灌胃 (灌胃量 0.4 mL 左右), 对照组为健康虾匀浆液; 实验期间小鼠自由采食、饮水, 饲喂标准全营养复合饲料; 饲养温度 20~30 °C, 相对湿度 40%~50%; 连续染毒 7 d。

1.4 试验方法

1.4.1 对虾中游离态 T-2 毒素的定量检测

1.4.1.1 虾样前处理

虾样处理方法参考施琦 (2013) 对凡纳滨对虾不同组织部位内 T-2 毒素的提取法。

血样品处理: 每个平行血样加入 6 mL 乙酸乙酯进行溶解, 涡旋振荡 10 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 重复三次, 合并上清提取液。

肌肉样品前处理: 取染毒虾样的肌肉, 加入 10 mL 乙酸乙酯, 剪碎, 10000 r/min 均质 1 min, 10 mL 乙酸乙酯清洗刀头, 合并于匀浆液中, 超声并振荡 10 min, 离心 (4000 r/min, 10 min) 取上清。残渣再加入 15 mL 乙酸乙酯超声振荡离心取上清, 重复 2 次, 合并乙酸乙酯上清提取液。

肝胰腺样品处理: 分别取染毒虾样的肠道和肝胰腺, 加入 10 mL 乙酸乙酯剪碎, 超声振荡 10 min, 离心 (4000 r/min, 10 min) 取上清, 重复三次, 合并上清。

上述上清液分别进行氮吹浓缩后, 用 5 mL 甲醇-水 (3:7) 复溶, 过 0.22 μ m 滤膜, 取 1 mL 上机检测。

1.4.1.2 仪器检测条件

色谱柱: Hypersil GOLD (150 mm \times 2.1 mm, 5 μ m, Thermo Scientific); 流动相: A: 甲醇, B: 5 mmol/L 乙酸铵溶液 (0.1% 甲酸); 进样量: 10 μ L; 针头到底距离: 1.0 mm; 进样速度: 10.0 μ L/s; 淋洗体积: 1500 μ L; 冲洗体积: 1500 μ L; 淋洗速度: 100.00 μ L/s。质谱扫描模式: ESI (+); 喷雾器电压: 4500 V; 鞘气压力: 25 au; 辅助气压: 5 au; 毛细管温度: 270 °C; 碰撞压: 1.5 mTorr。

1.4.2 小鼠精子畸形试验

连续一周灌胃后, 在第 8 d, 用颈椎脱臼法处死小鼠^[10], 取两侧附睾, 放入有适量生理盐水 (约 1 mL)

的小烧杯中,用剪刀将附睾纵向剪1~2刀,精致3~5 min。用吸管取一滴精液,滴于平而盖玻片的一端,用另一载玻片的一端与精液接触,使精液均匀分布于两玻片之间,再以30℃角向前推进,即可制成均匀抹片,使其自然干燥。干燥后,用甲醇固定5 min以上干燥,用1%~2%伊红染色1 h,用水轻冲,待干燥后即可镜检。

镜检将自然干燥后的抹片置于放大100~400倍显微镜下观察。计数结构完整的500个精子,按照无钩、香蕉形、胖头、无定形、尾折叠、双头、双尾几类分别进行分类计数,然后计算畸形率。

1.4.3 小鼠骨髓微核试验

小鼠经处死去完附睾后,进行解剖,剪取胸骨或股骨,按照国家标准GB 15193.5-2003骨髓细胞微核试验方法进行制片,用止血钳挤出骨髓液与玻片一端的小牛血清混匀,常规涂片,或用小牛血清清洗股骨髓腔制成细胞悬液涂片,涂片自然干燥后放入甲醇中固定5 min~10 min。当日固定后保存。将固定好的涂片放入Giemsa应用液中,染色10 min~15 min。立即用pH 6.8的磷酸盐缓冲液或蒸馏水冲洗、晾干。写好标签,阴凉干燥处保存。

选择细胞完整、分散均匀,着色适当的区域,在油镜下观察。用双盲法阅片。每只动物计数1000个嗜多染红细胞^[11-12],观察含有微核的嗜多染红细胞数,微核率以千分率表示。

1.5 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析,以平均数±标准差(±s)表示,方差分析,用LSD最小显著法比较组间差异,P<0.05为有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 LC-MS/MS 检测结果

2.1.1 T-2 毒素的LC-MS/MS检测质谱条件

以全扫描模式(full scan)对检测样品和标准品进行检测。而如图1所示的是T-2毒素的总离子流图(total ion current),通过对处于的某一质量范围的离子强度进行相加而得到,比如图中所示T-2毒素的保留时间为5.37 min,这一结果与施琦(2013)报道的结果相近。

2.1.2 虾样中检测到的游离态T-2毒素含量

由图2可知,随着对虾暴露T-2毒素剂量的增大,对虾体内游离态T-2毒素的含量升高,然而升高的量并未达到预期的要求,特别是中高剂量染毒剂量组间,

T-2毒素含量变化较小。而在对虾肌肉中检测到的游离态T-2毒素含量几乎为零。表明游离态T-2毒素在对虾肝胰腺、肠道和血液中都具有一定的蓄积特性,而在肌肉中,却未发现游离态T-2毒素蓄积现象。

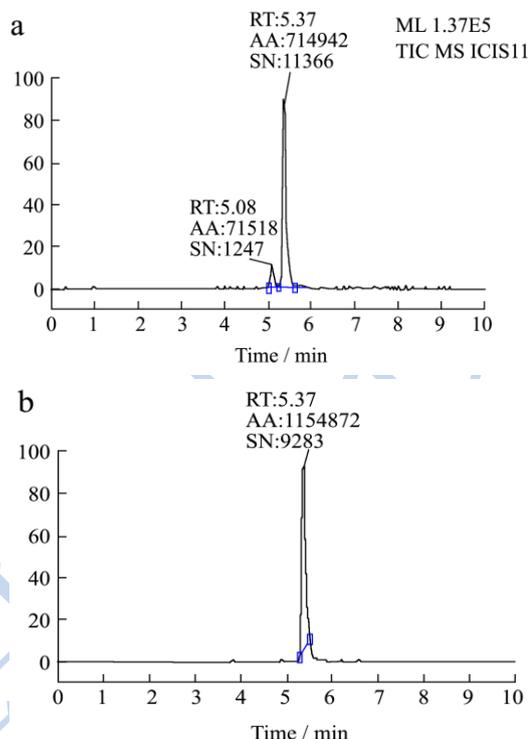


图1 检测T-2毒素的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of T-2 toxin

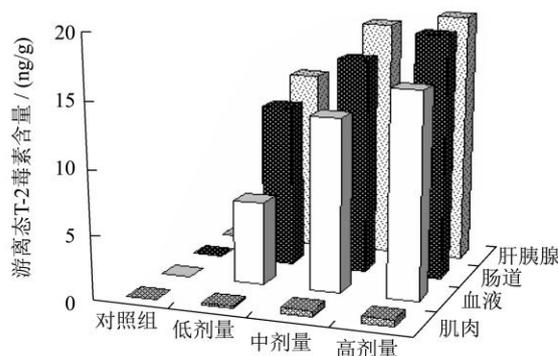


图2 对虾不同组织内游离态T-2毒素的含量

Fig.2 Content of free T-2 toxin in different shrimp organs

2.2 小鼠精子畸形试验

小鼠经连续的一周灌胃染毒对虾后,出现畸形精子,如图3所示。畸形精子主要表现为胖头、折尾、无定型、无钩、香蕉型、双头和双尾等几种形态。

由表1可知,经灌胃染毒后,总体上看,精子畸形以尾折叠和无定型畸形为最常见,其次为胖头畸形,无钩和双尾畸形比较少,香蕉型和双头最少。试验组精子畸形率均高于对照组,部分具有统计学意义,即存在显著性差异(P<0.05)。随着对虾染毒剂量

的上升,与对照组相比,低剂量灌胃组产生的精子畸形率不存在显著性差异 ($P>0.05$),中剂量组中只有肝胰腺组存在显著性差异 ($P<0.05$);而高剂量组中,除血组织外,其他灌胃组产生畸形率与对照组相比存在显著性差异 ($P<0.05$)。同剂量不同灌胃组织之间畸形率比较,发现只有高剂量的肌肉组和血液组之间存在显著性差异 ($P<0.05$)。同组织不同剂量试验组间畸形率比较,发现只有高剂量组肌肉与低剂量组肌肉之间存在显著性差异 ($P<0.05$)。染毒对虾四个组织中,以血液组对小鼠畸形率的影响最小,没有统计学意义;肌肉、肝胰腺、肠道都存在一定的毒性作用,尤其是高剂量组作用最为显著。

2.3 小鼠骨髓微核试验

小鼠经毒虾匀浆液灌胃后,微核(如图4)出现率升高。由表3可知,与对照组相比,高剂量试验组微核出现率均显著增大 ($P<0.05$);低、中剂量肝胰腺灌胃组与中剂量肌肉灌胃组微核出现率显著性增大 ($P<0.05$)。同组织不同剂量试验组间微核出现率相比较,除了血液组外,其余灌胃组织中,均有高剂量组微核出现率显著高于低剂量组 ($P<0.05$)。同剂量不同灌胃组织之间微核出现率比较,发现高剂量不同灌胃

组间均有显著性差异 ($P<0.05$);中剂量组中,肝胰腺组与其它灌胃组的差异显著 ($P<0.05$);低剂量组中,肝胰腺组与肠道、血液灌胃组的差异显著 ($P<0.05$),肌肉组与血液组的差异显著 ($P<0.05$)。从总体角度分析,则可发现,随着对虾染毒剂量的增大,小鼠骨髓微核出现率逐渐增大,部分存在显著性增大,其中以染毒对虾的肝胰腺和肌肉组织对小鼠骨髓微核的出现率影响最大,其次为肠道,而血液影响最小。

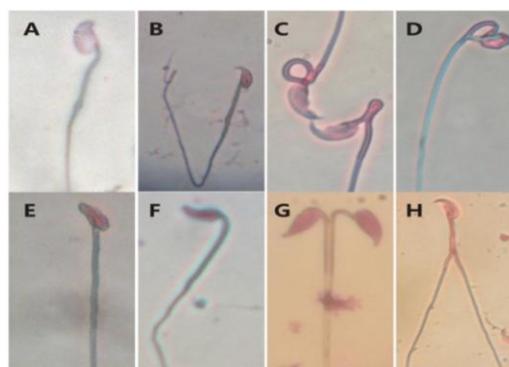


图3 染毒对虾诱导小鼠精子畸形的各种形态

Fig.3 Various forms of sperm deformity induced by poisoned prawns in mice

注: A为胖头; B为折尾; C、D为无定型; E为无钩; F为香蕉型; G为双头; H为双尾。

表1 对虾中T-2毒素对小鼠精子畸形的影响(±s)

Table 1 Effects of T-2 toxin-treated prawns on sperm deformity in mice (±s)

灌胃部位	组别	动物数/只	检测精子数/个	胖头	折尾	无定型	无钩	香蕉型	双头	双尾	畸形精子数/个	畸形率/%
肌肉	对照	6	3000	14	26	21	3	1	2	3	70	2.33±0.48 ^{abc}
	低剂量	6	3000	23	30	26	2	0	1	1	83	2.77±0.66 ^{abcd}
	中剂量	6	3000	19	31	30	4	3	1	4	92	3.07±0.62 ^{bcde}
	高剂量	6	3000	24	38	35	4	3	2	3	109	3.63±0.61 ^e
肝胰腺	对照	6	3000	8	22	28	3	0	1	2	64	2.13±0.52 ^a
	低剂量	6	3000	15	27	29	5	1	0	5	82	2.73±0.83 ^{abcd}
	中剂量	6	3000	16	33	30	5	2	3	5	94	3.13±0.59 ^{cde}
	高剂量	6	3000	20	34	31	4	1	1	4	95	3.17±0.87 ^{de}
肠道	对照	6	3000	11	26	24	2	0	0	2	65	2.17±0.39 ^a
	低剂量	6	3000	19	27	27	4	1	1	1	80	2.67±0.73 ^{abcd}
	中剂量	6	3000	14	24	28	4	3	2	3	78	2.60±0.55 ^{abcd}
	高剂量	6	3000	22	35	29	5	2	2	2	97	3.23±0.43 ^{de}
血液	对照	6	3000	11	23	24	2	2	3	2	67	2.23±0.48 ^a
	低剂量	6	3000	13	27	23	3	0	1	2	69	2.30±0.45 ^{ab}
	中剂量	6	3000	19	29	21	3	0	1	1	74	2.47±0.55 ^{abcd}
	高剂量	6	3000	19	31	27	2	0	0	2	81	2.70±0.60 ^{abcd}

注: 同列字母不同表示具有显著性差异, $p<0.05$, 下同。

2.3 染毒对虾不同组织的毒性比较

如图5所示,随着对虾T-2毒素暴露剂量的上升,对虾不同组织灌胃导致的精子畸形率逐渐上升。由图

可知, 毒虾四个组织毒性存在差异, 四个组织灌胃产生的精子畸形率曲线斜率不同, 肌肉灌胃组的曲线斜率最大, 其次为肝胰腺、肠道, 最后为血液。表明对虾肌肉可以在较小的 T-2 毒素暴露剂量下产生跟对虾肝胰腺、肠道和血液一样的毒性, 对虾肌肉对小鼠精子畸形的影响程度大于肝胰腺、肠道和血液。

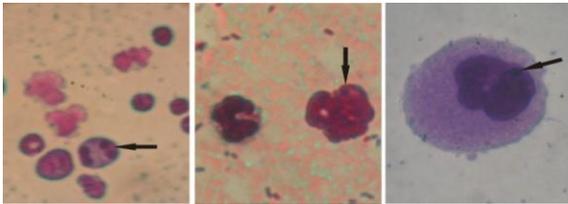


图 4 染毒对虾诱导小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形态

Fig.4 Micronucleus morphology of polychromatic erythrocytes induced by poisoned prawns in mice bone marrow

表 2 对虾中 T-2 毒素对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的影响 (±s)

Table 2 Effects of T-2 toxin-treated prawns on micronucleus of polychromatic erythrocytes in mice bone marrow (±s)

灌胃部位	组别	动物数/只	观察的 PCE 数/个	含微核 PCE 数/个	微核率/%
肌肉	对照	6	6000	13	2.17±0.75 ^{ab}
	低剂量	6	6000	22	3.67±0.52 ^{bc}
	中剂量	6	6000	30	5.00±1.41 ^{cd}
	高剂量	6	6000	58	9.67±2.34 ^f
肝胰腺	对照	6	6000	10	1.67±1.03 ^a
	低剂量	6	6000	34	5.67±1.37 ^d
	中剂量	6	6000	39	6.50±1.38 ^{de}
	高剂量	6	6000	45	7.50±1.05 ^e
肠道	对照	6	6000	12	2.00±1.41 ^{ab}
	低剂量	6	6000	19	3.17±1.72 ^{ab}
	中剂量	6	6000	22	3.67±1.03 ^{bc}
	高剂量	6	6000	35	5.83±1.72 ^d
血液	对照	6	6000	9	1.50±1.22 ^a
	低剂量	6	6000	12	2.00±1.26 ^{ab}
	中剂量	6	6000	17	2.83±0.98 ^{ab}
	高剂量	6	6000	21	3.50±1.64 ^{bc}

由图 6 可知, 灌胃毒虾不同组织匀浆液后, 小鼠微核出现率的变化趋势与精子致畸率的变化趋势相接近, 随着对虾 T-2 毒素暴露剂量的上升, 对虾不同组织灌胃导致的小鼠的微核出现率逐渐上升。并且毒虾四个组织毒性也存在差异, 四个组织灌胃产生的精子畸形率曲线斜率不同, 斜率的大小趋势与精子畸形率相近, 也是肌肉>肝胰腺>肠道>血液。表明在相同 T-2 毒素暴露剂量下, 对虾肌肉对小鼠微核产生的影响明显高于其它三个组织产生的影响。

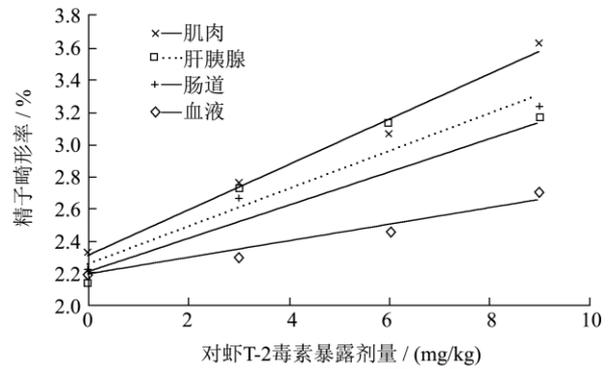


图 5 染毒对虾不同组织对小鼠精子畸形的毒性比较

Fig.5 Toxicity comparison of sperm deformity in mice exposed to different organs of poisoned shrimp

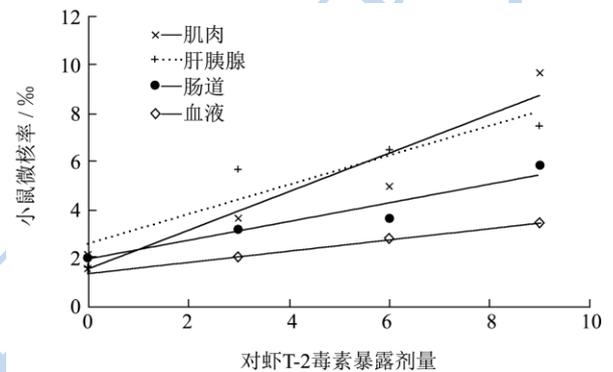


图 6 染毒对虾不同组织对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的毒性比较

Fig.6 Toxicity comparison of micronucleus of polychromatic erythrocytes in mice bone marrow exposed to different organs of poisoned shrimp

3 讨论

精子畸形指的是精子形状出现异常及异常数量的增多^[13]。正常在人类或哺乳动物的精液中只存在少量的畸形精子^[13]。然而, 由于生殖系统对某些外源物质(如化学和真菌毒素)的敏感性, 生殖系统容易受外源物质的影响, 使得雄性动物精液内精子的畸形率发生改变。因此, 哺乳动物精子畸形率高低的检测指标, 可以反映外源化合物的生殖毒性及其可能具有的致突作用。在我国, 小鼠精子畸形实验已经作为评价食品、药品对雄性动物遗传毒性的重要指标^[13]。本试验, 通过连续对小鼠灌胃毒虾不同部位匀浆液样品一周后, 检测小鼠精子畸形率。结果显示, 不同染毒对虾的不同组织中的 T-2 毒素对精子致畸产生的影响不同, 其中肌肉、肝胰腺和肠道中 T-2 毒素产生的影响显著, 尤以高剂量组作用明显, 精子致畸率与染毒对虾的注射剂量存在一定的剂量反应关系, 表明了对虾体内的 T-2 毒素具有一定的遗传毒性。并且通过拟合曲线, 比较染毒对虾不同组织毒性大小, 结果表明了对虾四

个组织的毒性大小依次为肌肉、肝胰腺、肠道和血液。

微核 (Micronucleus MCN), 是位于真核细胞中独立于主细胞核的一类核小体, 是真核细胞中的一种异常结构, 当真核细胞中染色体发生部分丢失或断裂时, 染色体在细胞有丝分裂后期时, 无法进入子代细胞的细胞核, 而在间期子代细胞浆中形成不规则核小体^[14]。小鼠微核试验, 是通过检测小鼠骨髓嗜多染红细胞中微核的出现率, 间接体现染色体畸变发生率的高低, 从而判断染色体的受损伤情况, 是目前检测受试物是否具有遗传毒性的常用遗传学方法之一。本试验中, 高剂量染毒对虾对小鼠的微核的影响显著, 对虾的染毒剂量与微核出现率呈现一定的剂量反应关系, 而染毒对虾各组织中以肌肉和肝胰腺的产生的影响最为明显, 其次为肠道。拟合曲线, 比较四个组织毒性大小, 结果也表明了毒性大的为肌肉、肝胰腺, 其次为肠道、血液。说明染毒对虾对小鼠染色体的畸变产生作用, 且毒性较大的为肌肉和肝胰腺。

然而在经 LC-MS/MS 检测发现, 染毒对虾体内蓄积的游离态 T-2 毒素含量低于预期值, 特别是在肌肉中, 游离态 T-2 毒素的含量却接近于零, 表明对虾肌肉中蓄积了一种可逃避检测, 区别于游离态 T-2 毒素的隐蔽态 T-2 毒素。隐蔽态 T-2 毒素在进入小鼠机体后, 被转化为游离态 T-2 毒素, 从而继续产生二次危害。

4 结论

由上所述, 小鼠的骨髓微核出现率、精子畸形率与染毒对虾 T-2 毒素注射剂量呈一定的剂量反应关系。对虾体内的 T-2 毒素对小鼠具有遗传毒性, 在肌肉、肝胰腺、肠道和血液中, 以肌肉和肠道内 T-2 毒素产生的影响最为显著, 是染毒对虾的主要毒性靶位, 其次为肠道。LC-MS/MS 检测到的对虾体内游离态 T-2 毒素的含量结果更进一步的说明 T-2 毒素在对虾体内具有蓄积性和隐蔽性。T-2 毒素在对虾体内具有一定的蓄积性, 并有部分可被转化为可逃避检测的隐蔽态 T-2 毒素, 对机体存在二次污染的危害。其中, 具体的作用规律, 还有待进一步的研究。对虾中 T-2 毒素对小鼠遗传毒性危害的研究为进一步研究对虾体内 T-2 毒素潜在危害提供了一定的理论参考。

参考文献

[1] Mateo J J, Mateo R, Hinojo M J, et al. Liquid chromatographic determination of toxigenic secondary metabolites produced by *Fusarium* strains [J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 955(2): 245-256

[2] Visconti A, Lattanzio V M, Pascale M, et al. Analysis of T-2 and HT-2 toxins in cereal grains by immunoaffinity clean-up and liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1075(1-2): 151-158

[3] 王敏辉, 李吕木, 丁小玲. T-2毒素研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2011, 23(1): 20-24

WANG Min-hui, LI Lv-mu, DING Xiao-ling. Research advances on T-2 toxin [J]. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 2011, 23(1): 20-24

[4] 邹广迅, 张红霞, 花日茂. T-2毒素的毒性效应及致毒机制研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2011, 06(2): 121-128

ZOU Guang-xun, ZHANG Hong-xia, HUA Ri-mao. Research progress in toxicological effects and mechanism of T-2 toxin [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 06(2): 121-128

[5] Meissonnier G M, Laffite J, Raymond I, et al. Subclinical doses of T-2 toxin impair acquired immune response and liver cytochrome P450 in pigs [J]. *Toxicology*, 2008, 247(1): 46-54

[6] 杨建英, 李元晓. T-2毒素对机体的毒性作用研究进展 [J]. *环境与健康杂志*, 2012, 29(10): 957-959

YANG Jian-ying, LI Yuan-xiao. Toxic effects of T-2 toxin on organism: a review of recent studies [J]. *Journal of Environment and Health*, 2012, 29(10): 957-959

[7] Santacroce M P, Conversano M C, Casalino E, et al. Aflatoxins in aquatic species: metabolism, toxicity and perspectives [J]. *Reviews in Fish Biology Fisheries*, 2008, 18(1): 99-130

[8] Encarnaçãõ P. Mycotoxins: an overlooked threat in shrimp [EB/OL]. (2008-04-09) [2014-05-22] <http://allaboutfeed.test.blueskies.nl/news/mycotoxins-an-overlooked-threat-in-shrimps-11428.html>.

[9] Supamattaya K, Bundit O, Boonyaratatlin M, et al. Effects of mycotoxins T-2 and Zearalenone on growth performance immuno-physiological parameters and histological changes in Black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *XII International Symposium of Fish Nutrition & Feeding*, 2006, 41: 218-221

[10] 苏敬水, 刘炳琪. 科学实验中动物致死方式的选择 [J]. *畜牧兽医杂志*, 2012, 31(2): 51-56

SU Jing-shui, LIU Bing-qi. Selection of death ways in animal scientific experiments [J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2012, 31(2): 51-56

[11] 卿佰春, 崔亚飞, 李晓林, 等. 抗真菌药安特芬的小鼠微核试验与精子畸形试验研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(7): 141-143

QING Bai-chun, CUI Ya-fei, LI Xiao-lin, et al. Mouse Micronucleus Test and Sperm Abnormality Test of the

- Antifungal Medicine[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2011, 38(7):141-143
- [12] Miller B, Albertin S, Ioeher F. Comparative evaluation of the in vitro micronucleus test and in vitro chromosome aberration test; industrial experience [J]. Mutation Research, 1997, (1-2): 45-49
- [13] 李玖莹,沈明浩.三氟氯氰菊酯对小鼠骨髓细胞微核及精子畸形和蓄积毒性的影响研究[J].中国畜牧兽医,2011,38(9): 152-155
LI Jiu-ying, SHEN Ming-hao. Bone marrow cell micronucleus, sperm abnormality, accumulation toxicity of Lambdacyhalothrin in mice [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2011, 38(9): 152-155
- [14] 杜峰涛,李林.细胞微核形成机理探讨[J].现代检验医学杂志,2007,22(4):19-22
DU Feng-tao, LI Lin. Cell micronucleus form mechanism discuss [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2007, 22(4): 19-22