

对虾肠道中产毒镰孢菌抑制菌的筛选与鉴定

叶日英, 王雅玲, 孙力军, 徐德峰, 蔡坤荣, 薛奕红, 陈妍贤, 刘昆

(广东海洋大学食品科技学院, 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, 广东湛江 524088)

摘要: 为了获得对产毒镰孢菌具有抑制效应的海洋细菌, 从对虾肠道中分离细菌, 并将分离得到的优势细菌与产 T-2 毒素的禾谷镰孢菌 (*Fusarium graminearum*) (FG1207) 进行固体对峙培养, 具有抑菌圈的细菌菌落即为产毒镰孢菌的抑制菌。然后选取对 FG1207 具有抑制作用的细菌与 FG1207 进行液体共同培养, 用 LC-MS/MS 技术检测菌悬液中 T-2 毒素含量, 最后对具有抑制 FG1207 的生长和降解 T-2 毒素效果的细菌进行 16s rRNA 序列鉴定和 VITEK2 细菌生化鉴定。实验结果分离得到 8 株优势细菌, 其中一株对 FG1207 的生长具有明显的抑制作用; LC-MS/MS 检测发现该细菌与 FG1207 共同培养菌悬液中未检测到 T-2 毒素, 说明该细菌不仅能够抑制产毒镰孢菌的生长, 还能降解 T-2 毒素。经 16s rRNA 鉴定该细菌为海洋尼泊尔葡萄球菌 (*Nepal Staphylococcus Aureus*), 相似度为 99.93%, VITEK2 细菌生化鉴定的相似度为 96.86%。

关键词: 对虾肠道细菌; 禾谷镰孢菌; T-2 毒素; 抑制

文章编号: 1673-9078(2015)7-117-122

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.020

Isolation and Identification of Strains Inhibiting Toxigenic *Fusarium*

Isolated from Intestinal Bacteria of Prawns

YE Ri-ying, WANG Ya-ling, SUN Li-jun, XU De-feng, CAI Kun-rong, XIE Yi-hong, CHEN Yan-xian, LIU Kun

(College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: In order to identify marine bacteria with the ability to inhibit the toxigenic fungus *Fusarium*, beneficial bacteria were isolated from prawns intestines and cultured on a solid medium in antagonism with *Fusarium graminearum* (FG1207), which produces the T-2 toxin. Bacteria with inhibition zones were regarded as being able to inhibit toxigenic FG1207. These were isolated and grown with FG1207 in a liquid medium. Liquid chromatography-mass spectroscopy/ mass spectroscopy (LC-MS/MS) was used to estimate the T-2 toxin present in the liquid medium. Bacterial strains found to both inhibit FG1207 growth and degrade T-2 toxin were identified using 16s rRNA sequencing and VITEK 2 biochemical identification methods. Thus, eight strains of beneficial bacteria were isolated. Of these, one strain (H5) showed a significant inhibitory effect on FG1207 growth, wherein LC-MS/MS did not detect T-2 toxin in the liquid medium containing H5 and FG1207. This result indicated that not only could this bacterial strain inhibit the growth of toxigenic *Fusarium* but it could also degrade T-2 toxin. The strain H5 was identified via 16s rRNA sequencing as *Nepal Staphylococcus aureus*, with 99.93% similarity seen, while VITEK 2 biochemical identification showed 96.86% similarity.

Key words: prawn intestinal bacteria; *Fusarium graminearum*; T-2 toxin; inhibition

收稿日期: 2014-10-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31171634, 31371777, 31371746); “十二五”国家科技支撑计划项目 (2012BAD29B06); 广东海洋大学大学生创新创业训练项目 (CXXL2014024); 湛江市科技计划项目 (2011D02); 广东海洋大学创新强校工程科研项目 (GD0U2013050205, GD0U2014050203)

作者简介: 叶日英 (1965-), 女, 高级实验师, 从事食品工程、食品质量与安全方向的研究

通讯作者: 王雅玲 (1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 水产品质量与安全控制

海洋微生物由于生存环境无光、高压、高盐及低营养等条件的影响, 其代谢产物具有独特的功能和结构, 有些具有独特的抑菌作用。近几年来, 许多研究人员致力于研究海洋微生物的抗菌活性物质, 例如 Radjasa OK 等从事海洋微生物活性物质用于医药方面的研究^[1], Sanchez 等研究和发现功能独特的微生物^[2], Gulder 等研究海洋细菌中的生物成分^[3]。近年来有多达 5,000 多种新的海洋天然产物被发现, 其中大多数都来自海洋微生物^[4], 这些微生物存在于海水、海泥、

岩石表面及海藻、鱼、虾、珊瑚及其它海洋生物中。

镰孢菌是农作物腐败菌,生长过程产生以 T-2 毒素为主的单端孢霉烯族化合物(Trichothecene, TRICs)的毒活性物质,人和动物食用了 T-2 毒素污染的食物会发生中毒现象^[5],其毒性作用主要是破坏机体免疫器官,降低免疫功能^[8-9]。1973 年联合国粮农组织(FAO)和世界卫生组织(WHO)在日内瓦召开联席会议,把 T-2 毒素划为自然界存在的最危险的食物污染源,于是世界各国对镰孢菌毒素的污染问题日益关注和重视。我国对镰孢菌毒素的研究起步比较晚,并受到经济水平、技术条件和重视程度等因素的制约, T-2 毒素还没有引起广泛的关注。镰孢菌主要存在于小麦、大豆、玉米等粮谷类食物中^[10,11],人们为了降低水产养殖成本,常利用大豆和玉米作为混合对虾饲料成分,导致对虾饲料广泛受到镰孢菌及 T-2 毒素的污染, T-2 毒素会导致对虾产生黑斑病,影响对虾生长及其外观质量,同时也会引起人们食用对虾的安全风险。由于对虾长期生存于镰孢菌和 T-2 毒素暴露的环境中,因此对虾肠道内可能有抵抗镰孢菌生长和 T-2 毒素作用的细菌存在,据此本项目实验通过分离对虾肠道的细菌,利用对虾源禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*) (FG1207)作为指示菌,将对虾肠道细菌和 FG1207 用固体对峙培养法筛选出具有控制效应的细菌菌株,再将细菌与镰孢菌作液体共同培养后,用 LC-MS/MS 检测培养液中 T-2 毒素的含量,从而明确细菌是否能抑制镰孢菌产 T-2 毒素,最后将对虾肠道细菌作自动生化鉴定和 16S rDNA 序列鉴定,以确定菌属。

1 材料与方法

1.1 实验材料

菌株:产 T-2 毒素的禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*) FG1207,广东海洋大学 CAMT 团队微生物菌种保藏中心;鲜活南美白对虾:每尾重 5 ± 0.2 g, 购买于广东省湛江市东风市场;海水:取自湛江东海岛海域;培养基:PDA 培养基,营养肉汤培养基,营养琼脂培养基,均为化学纯,购于北京陆桥技术有限公司。

试剂:T-2 毒素标准品(Enzo, USA, 纯度 $\geq 98\%$); 甲醇(一级色谱纯,天津四友精细化学品有限公司, 纯度 $\geq 99.9\%$); 乙腈(色谱纯, JHD, 纯度 $\geq 99.9\%$); 乙酸铵(Sigma-Aldrich); 超纯水(arium 611VF); 其余试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 主要设备

超净工作台(SW-CJ-2F),苏州净化设备有限公司;恒温振荡培养箱(HZQ-QX),上海百典仪器设备有限公司;离心机(Sigma 2-16KL),Sigma 公司生产;液质联用仪(TSQ Quantum Access),Thermo Scientific 公司生产;超声波粉碎仪(UH-S2),天津奥特赛恩斯仪器有限公司生产;涡旋震荡仪(REAX),德国 Heidolph 公司生产;氮吹仪(N-EVAP),德国 Organomation Associates, Jnc 公司生产;电子分析天平(AUW120),日本岛津公司生产。细菌全自动鉴定仪 VITEK-60,法国梅里埃公司生产。

1.3 实验方法

1.3.1 对虾肠道细菌的分离

取南美白对虾于超净工作台中用 75% 酒精擦拭外表灭菌后,用灭菌的解剖刀小心剖开对虾,取出肠道于灭菌培养皿中,共取对虾肠道 1 g 左右,将对虾肠道捣碎成浆后加入无菌生理盐水 9 mL,制成 10^{-1} 浓度溶液,再吸取其中 1 mL 于 9 mL 生理盐水的试管中,制成 10^{-2} 溶液,按此方法制成 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 的溶液。然后用营养琼脂海水培养基倒制平板,取 10^{-1} 溶液作划线接种分离,用 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 溶液作平板稀释分离,置于 28 °C 恒温培养 48 h,观察和记录菌落的种类,将生长数量较多的优势菌落分别接种培养于试管培养基待用。

1.3.2 对虾肠道细菌与禾谷镰孢菌的对抗生长试验

用 PDA 海水培养基倒制平板,在平板一侧接种禾谷镰孢菌接种两点,于 28 °C 恒温培养,为了减少水分挥发,防止培养基变干,在平板周边包卷一层保鲜膜,将平皿缝贴住。待镰孢菌生长至菌落直径为 1 cm 左右时,在平板的另一侧划“十”字接种对虾肠道优势细菌,继续培养 3 d 后观察结果,选出具有抑制禾谷镰孢菌作用的细菌,并作镜检。

1.3.3 对虾肠道细菌液态摇瓶发酵及无细胞液的制备

将具有抑制禾谷镰孢菌作用的细菌接种于装有营养肉汤海水培养基的试管,28 °C 培养两天后接入三角瓶培养基,置于恒温振荡箱 28 °C 进行扩大培养,4 d 后取出发酵液,10000 r/min 离心 15 min,小心将上清液吸出,得到无细胞发酵液,冷藏备用。

1.3.4 对虾肠道细菌发酵液抑制禾谷镰孢菌生长的试验

将禾谷镰孢菌接入装有马铃薯液态培养基三角瓶中,分别添加相当于 1/6、1/5、1/4、1/3 和 1/2 马铃薯液态培养基体积的对禾谷镰孢菌具有抑制作用的细

菌无细胞发酵液,每一种添加量做三个平行,于28℃培养,5d后取出10000 r/min离心15 min,将禾谷镰孢菌的菌丝与发酵液分离,得到湿菌丝和无细胞发酵液,用天平称取湿菌丝重量,同时分别作添加等量空白海水营养肉汤培养基的禾谷镰孢菌培养对照组试验。

1.3.5 禾谷镰孢菌与对虾肠道细菌共同培养产T-2毒素试验

将马铃薯培养基与海水营养肉汤培养基以1:1的体积比混合,接种禾谷镰孢菌和对虾肠道优势细菌共同培养,28℃培养5d后取出测菌悬液的T-2毒素含量,并以相同培养条件作禾谷镰孢菌单独培养的菌悬液测T-2毒素含量作对照。

1.3.6 用LC-MS/MS方法检测禾谷镰孢菌菌悬液T-2毒素的含量

样品前处理:取10 mL菌悬液,超声10 min,加入10 mL乙酸乙酯振荡20 min,4000 r/min离心5 min,取上清液,重复提取3次。合并上清液,60℃N₂吹干后用1 mL的甲醇+5 mmol/L乙酸铵溶液(3+7;V+V)+0.1%甲酸混合液溶解,过0.22 μm滤膜^[12]。

仪器条件:色谱柱:Hypersil GOLD(150 mm×2.10 mm, 5 μm, Thermo Scientific);流动相:A:甲醇 B:5 mmol/L乙酸铵溶液(0.10%甲酸);进样量:10 μL;针头到瓶底距离:1.0 mm;进样速度:10.00 μL/s;淋洗体积:1500 μL;冲洗体积:1500 μL;淋洗速度:100.00 μL/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℃;碰撞压:1.50 mTorr。

1.3.7 细菌16s rRNA序列鉴定

将具有对禾谷镰孢菌具有明显抑制作用的细菌作16s rRNA序列鉴定,样品的处理过程为:吸取30 μL ddH₂O加到1.5 mL的无菌离心管中,按无菌操作要求挑取单个菌,并于水中吸打混匀,使成有一定浊度的菌悬液。并将其放到-20℃冰箱,15 min后取出置于65℃水浴,10 min。如此反复冻融3次,弹打后,即可作模板。

PCR引物采用细菌通用引物,即:27F:5'to3':GAGTTTGATCCTGGCTCAG;1492R:5'to3':CTACGGCTACCTTGTACGA。得到16s rRNA序列鉴定结果后,再建系统发育树检测。

1.3.8 对虾肠道细菌的生化鉴定

将具有抑制禾谷镰孢菌作用的细菌用细菌全自动鉴定仪进行鉴定。使用方法:将3 mL无菌盐水加入到清洁塑料管中,接种形态相同的菌落至盐水管中,按步骤准备菌悬液并混匀,用已校正的VITEK2比浊

仪配制相当于0.50~0.63麦氏单位的菌悬液,将悬浮液管及GN卡置于载卡台上进行鉴定。

2 结果与讨论

2.1 对虾肠道细菌分离结果

从对虾肠道分离得到共38株菌,其中8株菌是数量较多的优势细菌,这8种细菌每种都占菌落总数的10%以上,是对虾肠道中固有的细菌,将该8种菌株分别与禾谷镰孢菌接种作对抗生长试验。

2.2 对虾肠道细菌与禾谷镰孢菌对抗生长及抑制菌的形态特征

分别将8株细菌与禾谷镰孢菌接种进行对峙生长培养,结果仅有一株细菌具有明显抑制镰孢菌的作用,平皿的菌落生长结果如图1所示,将具有抑制镰孢菌的细菌命名为H5(图1中的M、R是H5与镰孢菌的对峙生长图),其余菌株对镰孢菌的抑制作用不明显(如图1中的S)。H5的镜检结果如图2中的W所示,H5的细胞形态接近圆球形,排列成串或成堆,革兰氏阳性;T是H5在营养琼脂培养基中的菌落状态,菌落乳白色,近似圆形,质厚,不透明,湿润有光泽,边沿整齐。这种球形细菌的特征与葡萄球菌的特征很相似,疑似葡萄球菌属细菌。

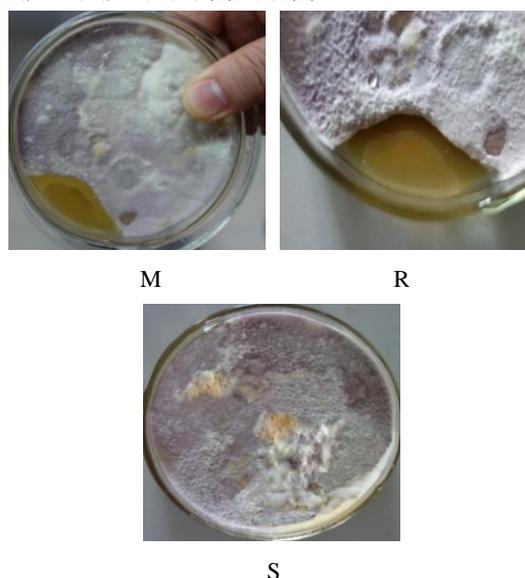


图1 对虾肠道细菌与FG1207在平皿中的对峙生长

Fig.1 Growth obtained in fungal-bacterial confrontation assay of prawn intestinal bacteria and FG1207

注:M:H5与禾谷镰孢菌具有抑制作用的对峙生长平皿;R:H5与禾谷镰孢菌的对抗生长的平皿局部;S:没有抑制作用的细菌与禾谷镰孢菌生长的平皿。

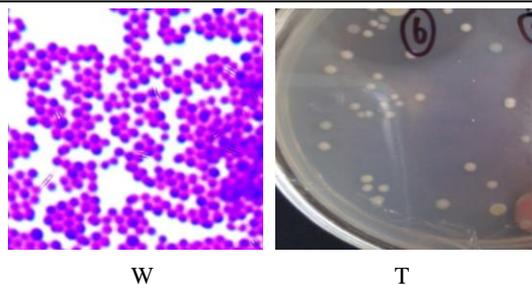


图 2. H5 的细胞形态及在营养琼脂培养基中的生长状态

Fig.2 Cell morphology (W) and colony characteristics on nutrient agar (T) of H5.

对虾真菌病近年来比较常见，特别是幼年虾受真菌污染的死亡率较大，而禾谷镰孢菌是对虾中常见的一种致病菌，由于 H5 是对虾肠道固有的细菌，而且具有抑制产毒禾谷镰孢菌的作用效果，因此，其抑制产毒镰孢菌的作用机理及其抑菌活性物质的生产将可

表 1 禾谷镰孢菌在不同培养基中的生长量

Table 1 *Fusarium graminearum* growth in different media

H5 发酵液添加量 (V/V)	禾谷镰孢菌菌丝湿重(g/100 mL)				空白试验组菌丝湿重/(g/100mL)	菌丝生长量降低率/%
	平均值	样品 1	样品 2	样品 3		
0	1.05	1.02	1.07	1.06	-	-
1\6	0.80	0.76	0.82	0.82	1.03	22.33
1\5	0.63	0.60	0.67	0.62	1.04	39.42
1\4	0.44	0.41	0.47	0.44	1.00	56.00
1\3	0.37	0.36	0.36	0.39	0.98	62.24
1\2	0.27	0.27	0.25	0.29	0.95	71.58

2.4 H5 与禾谷镰孢菌共同培养的菌悬液 T-2

毒素含量检测结果

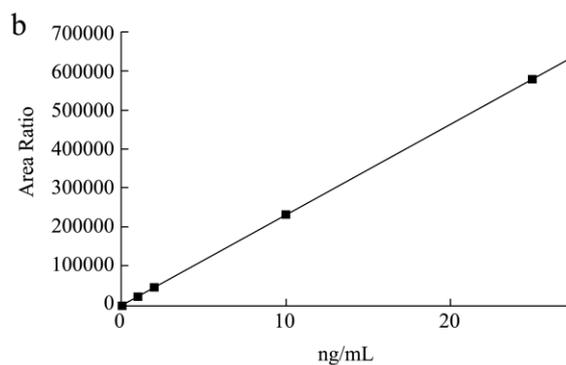
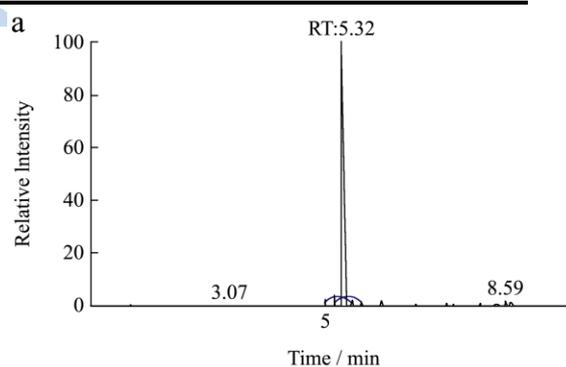
H5 和禾谷镰孢菌混合培养的菌悬液用 LC-MS/MS 检测 T-2 毒素含量结果如图 3 所示，其中 A 图是 T-2 毒素标准谱图，含量为 1.82 ng/mL，C 图是镰孢菌单独培养菌悬液的 T-2 毒素含量谱图，T-2 毒素含量为 0.12 ng/mL，T-2 保留时间为 5.32；D 是 H5 与产毒镰孢菌共同培养液中的 T-2 毒素含量，T-2 毒素未检出。

从 LC-MS/MS 检测的图谱结果可以看出，H5 抑制了禾谷镰孢菌产生 T-2 毒素，有可能是 H5 产生了 T-2 毒素的生物转化酶或降解酶，将禾谷镰孢菌产生的 T-2 毒素进行了物质转化或降解，变成了其它化合物；也有可能是 H5 直接阻断了镰孢菌产毒，无论是 H5 阻断了镰孢菌产毒或是降解了产生的毒素，都表明 H5 对禾谷镰孢菌产毒具有较大的抑制作用，据此可以利用 KF002255 体外培养的方法，提取抑制产毒镰孢菌生长和产生 T-2 毒素的活性物质。

能成为今后预防对虾真菌病的研究内容。

2.3 对虾肠道细菌发酵液对禾谷镰孢菌生长量的影响

按不同比例添加 H5 的无细胞发酵液的禾谷镰孢菌的生长量见表 1，表 1 的数据显示 H5 无细胞发酵液对禾谷镰孢菌的生长具有明显抑制作用，随 H5 发酵液添加量的增大，禾谷镰孢菌生长受抑制效果越大，当添加 1\4 的 H5 无细胞发酵液时，禾谷镰孢菌的生长量降低超过了一半（56.0%），说明 H5 的无细胞发酵液中具有抑制禾谷镰孢菌生长的活性物质。作为抑制禾谷镰孢菌的 H5 活性产物的结构特征及其提取技术有待进一步研究，因为抑菌活性物质的提取技术不仅影响得率，还会直接影响其抑菌的效果^[13]。



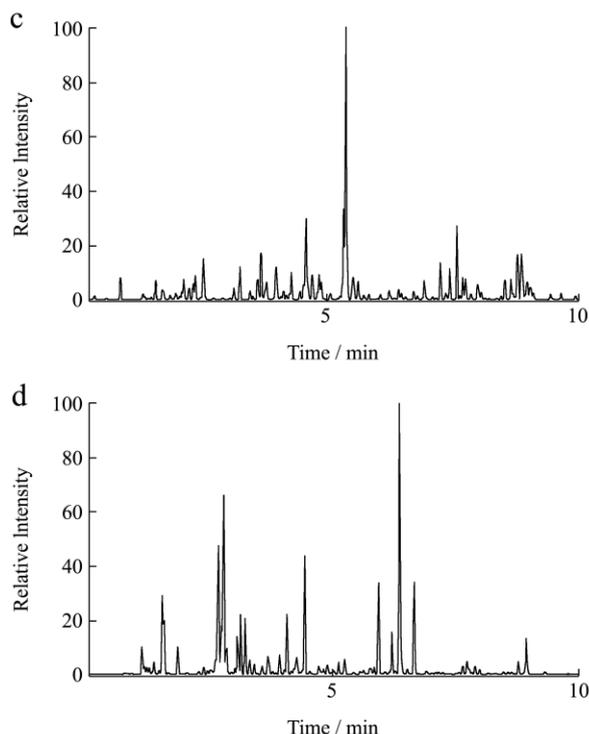


图3 H5与禾谷镰孢菌(FG1207)共同培养菌悬液T-2毒素的LC-MS/MS离子图谱

Fig.3 LC-MS/MS chromatograms of T-2 toxin in liquid co-culture of H5 and *Fusarium graminearum* (FG1207)

注: a: T-2 毒素标准品谱图, b: T-2 毒素标准品的标准曲线图; c: 镰孢菌普通培养菌悬液 T-2 毒素含量谱图, d: H5 与镰孢菌共同培养菌悬液 T-2 毒素含量谱图。

由于很多种镰孢菌的生长条件都相似,因此,H5可能对于其它类型镰孢菌的生长和产毒也具有抑制作用,有待将来通过对 H5 做延伸应用实验得到确证。

2.5 H5 的 16s rRNA 序列鉴定结果

将 16s rRNA 序列片段提交比对后,所得的结果是 H5 与尼泊尔葡萄球菌(*Staphylococcus nepalensis*)的相似度为 99.929%,提交的序列号(BankIt)为 1620367,菌编号为 KF002255,作 16S rRNA 建发育树检测,结果如图 4 所示。

尼泊尔葡萄球菌一般存在于水中和泥土中,这是首次发现在对虾肠道中存在尼泊尔葡萄球菌。葡萄球菌属细菌大部分无毒,少部分有毒,按色泽分为白色葡萄球菌,柠檬色葡萄球菌和金黄色葡萄球菌三类,菌落为白色的种类无毒,柠檬色的部分有毒,金黄色的有毒,而 H5 的菌落为乳白色,应该为无毒型葡萄球菌。

2.6 H5 的生化鉴定结果

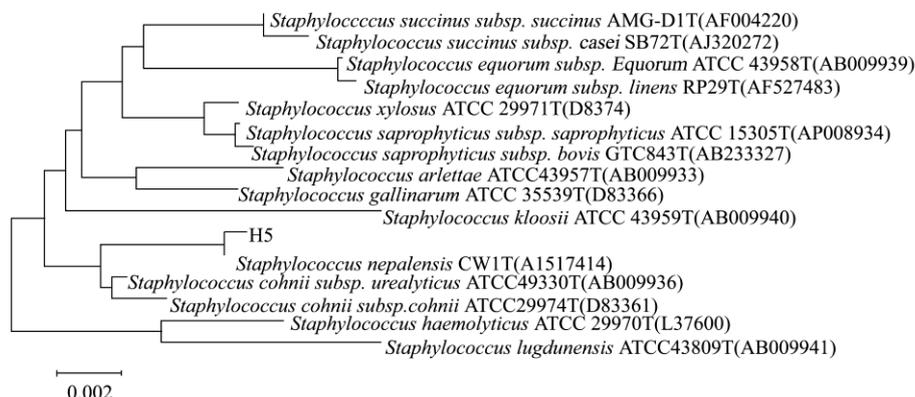


图4 基于 16s rRNA 序列的系统发育树(H5)

Fig.4 Phlogenetic tree based on 16S rRNA sequence analysis of H5

表 2 H5 细菌生化鉴定结果表

Table 2 Biochemical identification of H5

反应项目	结果	反应项目	结果	反应项目	结果	反应项目	结果	反应项目	结果	反应项目	结果
BXYL	+	LysA	-	AspA	-	LeuA	-	PheA	-	ProA	-
BGAL	-	PyrA	+	AGAL	-	AlaA	-	TyrA	-	BNAG	-
APPA	(-)	CDEX	-	dGAL	-	GLYG	-	INO	+	MdG	+
ELLM	-	MdX	-	AMAN	-	MTE	-	GlyA	-	dMAN	+
dMNE	+	dMLZ	-	NAG	-	PLE	+	IRHA	-	BGLU	+
BMAN	-	PHC	-	PVATE	+	AGLU	-	dTAG	-	dTRE	+
INU	-	dGLU	+	dRIB	+	PSCNa	-	NaCl6.5%	+	KAN	-
OLD	-	SAC	+	TTZ	-	POLYB_R	-				

注：“+”为阳性，“-”为阴性。

H5的全自动生化鉴定结果如表2所示,鉴定H5为尼泊尔葡萄球菌,相似度为96.86%,从生化反应结果可知,H5的木糖苷酶、酪氨酸芳胺酶反应为阳性,对糖的发酵反应不规则,能分解海藻糖、甘露糖、葡萄糖、蔗糖,血糖,也能分解麦芽糖醇和甘露醇,能利用NaCl。H5具有阻断禾谷镰孢菌产T-2毒素的能力或者降解、转化T-2毒素的能力,与这些生化特性相关。另外,目前已经知道葡萄球菌属细菌在生长过程产生溶纤维蛋白酶(Staphylococcal fibrinolysin),热核酸酶(Heat-stable nuclease),透明质酸酶(Hyaluronidase)和脂肪酶(Lipase)等生物酶,这些酶及其它生物酶的共同作用可能会导致镰孢菌的细胞间质纤维和核糖分解,从而破坏了镰孢菌的正常生长,减少了镰孢菌的生长量。

3 结论

从对虾肠道分离得到一株海洋尼泊尔葡萄球菌(*Staphylococcus nepalensis*)KF002255,其生长过程产生的胞外产物有效地抑制禾谷镰孢菌的生长,并且能抑制或降解禾谷镰孢菌产生T-2毒素。由于本实验只是对KF002255抑制产毒禾谷镰孢菌进行体外实验,对于KF002255在对虾体内抑制产毒镰孢菌作用的效果以及应用的安全性问题,还有待进一步的研究。

参考文献

- [1] R adjasa OK, Vaske YM, avaro G, et al. Highlights of Marine Invertebrate-derived Biosynthetic Products: Their Biomedical Potential and Possible Production by Microbial Associates [J]. Bioorganic Medicinal Chemistry, 2011, 19:6658-6674
- [2] Sanchez LM, Wong WR, iener RM, et al. Examining the Fish Microbiome: Vertebratederived Bacteria as an Environmental Niche for the Discovery of Unique Marine Natural Products [J]. PloS One, 2012, 7(5): 1-10
- [3] Gulder TAM, Moore BS. Chasing the Treasures of the Sea Bacterial Marine Natural Products [J]. Current Opinion in Microbiology, 2009, 12: 252-260
- [4] 李艳华,张利平.海洋微生物资源的开发与利用[J].微生物学通报.2003,30(3):113-114
LI Yan-hua, ZHANG Li-ping. The Development and Utilization of Marine Microbial Resources [J]. Microbiology, 2003, 30(3): 113-114.
- [5] 吕族乔,王治伦,吕社民.T-2毒素研究进展[J].中国地方病防治杂志,1996,11(5):282-285
LV Zu-qiao, WANG Zhi-lun, LV She-min. The Research Progress of T-2 Toxin [J]. Chinese Journal of Infection Control, 1996, 11(5): 282-285
- [6] Li M, Harkema J R, Islam Z. T-2 Toxin Impairs Murine Immune Response to Respiratory Reovirus and Exacerbates Viral Bronchiolitis [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2006, 217: 76-85
- [7] Hooft J M, Elmor H I, Encarnacao P. Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) is Extremely Sensitive to the Feed-borne Fusarium Mycotoxin Deoxynivalenol (DON) [J]. Aquaculture, 2011, 311: 224-232
- [8] Visconti A, Minervini F, Lucivero G, et al. Cytotoxic and Immunotoxin Effects of Fusarium Mycotoxins using a Rapid Colorimetric Bioassay [J]. Mycopathologia, 1991, 113(3): 181-186
- [9] Sokolović M, Garaj-Vrhovac V, Šimpraga B. T-2 Toxin Incidence and Toxicity in Poultry [J]. Arh Hig Rada Toksikol, 2008, 59(1): 43-52
- [10] 谢刚.粮食污染主要真菌毒素的研究[D].成都:四川大学, 2005
XIE Gang. The Research of Major Fungaltotoxin Contamination on Food [D]. Cheng Du: Sichuan University, 2005
- [11] HE Jianwei, ZHOU Ting, YOUNG JC, et al. Chemical and Biological Transformations for Detoxification of Trichothecene Mycotoxins in Human and Animal Food Chains: a Review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 21(2): 67-76
- [12] Foleimany F, Jinap S, Abas F. Determination of Mycotoxin in Cereals by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry [J]. Food Chemistry, 2012, 130: 1055-1060
- [13] 张云玲,郑一敏,胡少南,等.6-姜酚对幽门螺杆菌的抑菌作用研究[J].现代食品科技,2013,6:1259-1305
ZHANG Yun-ling, ZHENG Yi-min, HU Shao-nan, et al. Anti-Helicobacter Pylori Effect of 6-gingerol *in Vitro* [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 6: 1259-1305