

# T-2 毒素对不同生长期对虾的急性毒性及其分析方法的比较研究

施琦<sup>1</sup>, 王小博<sup>1</sup>, 王雅玲<sup>1</sup>, 莫冰<sup>2</sup>, 邱妹<sup>1</sup>, 孙力军<sup>1</sup>, 徐德峰<sup>1</sup>, 励建荣<sup>3</sup>

(1. 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) (2. 广西壮族自治区产品质量监督检验研究院, 广西南宁 530071) (3. 渤海大学, 辽宁省食品安全重点实验室, 辽宁锦州 121013)

**摘要:** 比较 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 的急性毒性及其分析方法, 明确对虾作为 T-2 毒素毒性评价的生物标记物的最佳时期, 建立 T-2 毒素对对虾的急性毒性互补评价方法。通过对不同生长期凡纳滨对虾的急性毒性试验, 采用寇氏法和概率单位法, 计算得到 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾的 LD<sub>50</sub>, 并通过 *u* 检验对两种方法求得的 LD<sub>50</sub> 值进行分析比较。结果得到 T-2 毒素对虾卵、幼虾和成虾的 LD<sub>50</sub> 值分别为 2.33、1.79 和 3.34 mg/kg bw, 且经检验两种方法求得的 LD<sub>50</sub> 并无显著性差异。研究表明, T-2 毒素对成虾的毒害作用最小急性毒性最弱, 对幼虾的毒害作用最大急性毒性最强, 即该生长期的凡纳滨对虾更适宜做评价 T-2 毒素急性毒性的生物标志物, 同时采用寇氏法和概率单位法相结合的方法得到的 LD<sub>50</sub> 值更具准确。

**关键词:** LD<sub>50</sub>; 死亡率; T-2 毒素; 急性毒性; 生物标志物

文章编号: 1673-9078(2016)07-231-236

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.7.035

## Acute Toxicity of T-2 Toxin in Shrimp at Different Growth Stages and Comparison of Corresponding Analytical Methods

SHI Qi<sup>1</sup>, WANG Xiao-Bo<sup>1</sup>, WANG Ya-ling<sup>1</sup>, MO Bing<sup>2</sup>, QIU Mei<sup>1</sup>, SUN Li-Jun<sup>1</sup>, XU De-Feng<sup>1</sup>, LI Jian-Rong<sup>2</sup>

(1. College of Food Science and Technology of 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, Guangdong, Zhanjiang 524088, China) (2. Key Laboratory for Food Safety of Liaoning Province, Bohai University, Jinzhou 121013, China)

**Abstract:** The acute toxicity of T-2 toxin on *Litopenaeus vannamei* at different growth periods and corresponding analytical methods were compared. Additionally, the optimal period to use shrimps as a biomarker for evaluation of the toxicity of T-2 toxin was determined, and a complementary method for evaluation of the acute toxicity of T-2 toxin on shrimps was established. Acute toxicity tests were performed on *L. vannamei* at different growth stages. The Spearman-Kärber and probability unit methods were used to calculate the lethal dose 50% (LD<sub>50</sub>) values for T-2 toxin in *L. vannamei* at different growth stages. The obtained LD<sub>50</sub> values were compared by *u*-tests. The LD<sub>50</sub> values for T-2 toxin in shrimp eggs, juvenile shrimps, and adult shrimps were 2.33, 1.79, and 3.34 mg/kg of body weight, respectively, and no significant differences were observed between the LD<sub>50</sub> values obtained using the two methods. These findings suggested that T-2 toxin exhibited the lowest toxic effect on adult shrimps and the highest toxic effect on juvenile shrimps. Thus, juvenile *L. vannamei* were more suitable for biomarker analysis when evaluating the acute toxicity of T-2 toxin, and a relatively accurate LD<sub>50</sub> value could be obtained using a method combining the Spearman-Kärber method and the probability unit method.

**Key words:** lethal dose; 50% mortality; T-2 toxin; acute toxicity; biomarker

收稿日期: 2015-06-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171634, 31371777), “十二五”国家科技支撑计划项目子课题(2012BAD29B06)

作者简介: 王小博, 男, 硕士研究生, 主要研究方向为真菌毒素与水产品质量安全

通讯作者: 王雅玲, 女, 教授, 从事真菌毒素危害与控制方面的研究; 励建荣, 男, 教授, 博导, 主要从事农产品、水产品贮藏加工与安全控制等方面的研究

T-2 毒素是由多种镰刀菌产生的单端孢霉烯族化合物中急性毒性最强的一种<sup>[1]</sup>。T-2 毒素中毒多为动物食用毒素污染饲料或长时间接触感染所致,对造血系统、免疫系统、消化系统、循环系统、代谢系统、生殖系统等可出现急性及亚慢性中毒等<sup>[2]</sup>。半数致死剂量(LD<sub>50</sub>)常作为急性毒性分级的重要依据<sup>[3]</sup>,研究人员发现 T-2 毒素对维斯塔鼠的 LD<sub>50</sub> 值为 0.23 mg/kg<sup>[4]</sup>,而 T-2 毒素对成年美洲鹌的 LD<sub>50</sub> 值为 14.70 mg/kg bw<sup>[5]</sup>,100 μg/kg 的 T-2 毒素可使对虾的生长速率显著降低<sup>[6]</sup>;当饲料中 T-2 毒素含量达到 6 mg/kg bw 时可导致虹鳟鱼致死<sup>[7]</sup>,说明 T-2 毒素对不同种类动物的差异性很大,对虾等水产动物比其他陆生动物对 T-2 毒素表现出更强的敏感性,因此,对虾常用作生物标志物评价环境或粮谷中的毒素毒性,如 Mello 等<sup>[8]</sup>用凡纳滨幼虾来评价苯氯菊酯的毒性;Stephen E<sup>[9]</sup>等用虾卵描述战剂及 T-2 毒素的毒性。由此可见,不同生长期对虾对 T-2 毒素的易感性存在差异,探明 T-2 毒素对不同生长期对虾的急性毒性大小,为明确对虾作为 T-2 毒素的生物标志物具有重要意义。

LD<sub>50</sub> 是评价外源化合物毒性大小的重要指标,常用来反映毒物的毒力和毒价。LD<sub>50</sub> 的分析方法很多,如:概率率单位法、寇氏法, Horn 法等。概率单位法对剂量分组无严格要求,不需要剂量组有 0% 和 100% 死亡率,但本法计算繁琐需拟合回归曲线,故现多采用计算机程序计算;寇氏法计算简单可信度大,适用于实验前对受试物急性毒性程度不了解的实验;Horn 法简单易行节省动物,但所得 LD<sub>50</sub> 可信范围较大不太精确。由于不同的 LD<sub>50</sub> 分析方法结果有时差异性较大,因此,本研究采用不同方法对 T-2 毒素 LD<sub>50</sub> 进行互补分析,以期更精确地描述 T-2 毒素的急性毒性。

本研究以 T-2 毒素对不同生长期的凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 一次性暴露染毒,采用寇氏法和概率单位法计算 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾急性毒性的 LD<sub>50</sub>, 并采用 u 检验对两种方法求得的 LD<sub>50</sub> 值进行显著性分析,同时比较 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾的 LD<sub>50</sub>, 进而探明 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾急性毒性效应,为 T-2 毒素对对虾的毒害机理研究奠定基础,并找出对虾作为生物标志物的最佳生长期及计算 LD<sub>50</sub> 最佳方法,同时对解决饲料真菌毒素引发的水产品质量安全问题具有重大意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 对虾实验分组

各生长期凡纳滨对虾(虾卵、幼虾、成虾)由湛

江东海岛对虾养殖基地提供。将不同生长期的凡纳滨对虾,分别放到硬塑养殖箱,利用充气式养殖系统保持海水溶氧量 DO>6 mg/L, pH 6.5~7.5; 水温 24~28 °C; 盐度 13‰。每日按对虾体重的 5% 实验饲料对幼虾和成虾饲喂三次 (AM9:30; 15:30; PM21:30), 饲喂比为 2:3:5; 虾卵采用牛奶(伊利金典)喂养。暂养 48 h 后对对虾进行 T-2 毒素的急性毒性试验。

随机挑选体质健康、个体大小均一的虾卵 (0.30 ± 0.05 g), 按照每组 10 尾(设 3 个平行)随机分配到长方形硬塑养殖箱中,以 2.00 mg/kg bw 为中剂量组,设五个染毒剂量组 (0.50、1.00、2.00、4.00、8.00 mg/kg bw) 和空白对照组,将不同剂量的 T-2 毒素分别加入到牛奶中,并对虾卵进行投毒;同理对幼虾 (3.5 ± 0.25 g)、成虾 (8.00 ± 0.50 g) 试验分组,采用 T-2 毒素微胶囊饲料染毒,以 2.00 mg/kg bw 为中剂量组,五个染毒剂量分别为 0.50、1.00、2.00、4.00、8.00 mg/kg bw。对虾暂养 1 周后停喂 24h 后进行投喂毒饵料实验,24 h 之后开始计算死亡率。

## 1.2 数据处理统计

### 1.2.1 采用概率单位法计算不同生长期凡纳滨对虾的半数致死量 LD<sub>50</sub>

根据概率单位表,将凡纳滨对虾的死亡率转化为概率单位。以剂量对数为横坐标,概率单位为纵坐标,用 Excel 绘制线性回归曲线。8.09 概率单位对应 100% 的死亡率,概率单位为 5 时,对应的剂量即为 LD<sub>50</sub><sup>[9]</sup>。由于剂量对数与反应率之间存在正态分布曲线关系,而正态分布曲线是一个渐近线,因此,死亡率 0 与 100% 在理论上是不存在的,所以,需要对 0 及 100% 的实验结果进行校正<sup>[10]</sup>,校正公式如下:

$$0 \text{ 可校正为: } \frac{0.25 \times 100}{N} \%$$

$$100\% \text{ 可校正为: } \frac{(N - 0.25)100}{N} 100\%$$

式中: N-该组动物数。

半数致死量的 95% 的置信区间

通常以总体 LD<sub>50</sub> 的 95% 置信区间,为可接受的 LD<sub>50</sub> 范围

计算标准误差:

$$S_{lgLD_{50}} = \frac{S}{\sqrt{N/2}}$$

式中: S-回归直线的斜率倒数; N-概率单位 4-6 范围内各组试验动物数之和。

计算 LD<sub>50</sub> 的 95% 可信区间:

按下式计算总体 LD<sub>50</sub> 的 95% 置信区间的对数值,

$$(\lg LD_{50} - 1.96 S_{\lg LD_{50}}, \lg LD_{50} + 1.96 S_{\lg LD_{50}})$$

### 1.2.2 采用改进寇氏法计算不同生长期凡纳滨对虾的半数致死量 LD<sub>50</sub>

寇氏法要求最小剂量的反应率为 0%，最大剂量的反应率为 100%，才能得到精确结果，经改进后，在最小剂量时  $p \leq 0.2$ ，最大剂量  $p \geq 0.8$  时即可<sup>[11]</sup>。且寇氏法还必须要组间剂量等比或对数剂量等差，受试动物的死亡率要求符合正态分布。计算公式如下：

$$\lg LD_{50} = X_m - i(\sum p - 0.5) \quad (1)$$

$$S_{\lg LD_{50}} = i \times \sqrt{\frac{pq}{n}} \quad (2)$$

$$LD_{50} 95\% \text{可信限度} = \lg^{-1}(\lg LD_{50} \pm 1.96 \times S_{\lg LD_{50}}) \quad (3)$$

式中：i-相邻两剂量组之对数差值；X<sub>m</sub>-最大剂量组剂量对数值；p-死亡率；q-存活率；n-每组动物数；S<sub>lgLD<sub>50</sub></sub>-标准差。

### 1.2.3 半数致死量 LD<sub>50</sub> 的显著性检验<sup>[12]</sup>

半数致死量是根据实验结果计算出来的估计值，为了验证结果的准确性，对半数致死量进行显著性分析是必要的。本实验采用 u 检验来对计算结果进行显著性分析，计算公式如下：

$$u = \frac{|\lg LD_{50(1)} - \lg LD_{50(2)}|}{S_{\lg LD_{50(1)} - \lg LD_{50(2)}} \quad (4)$$

$$S_{\lg LD_{50(1)} - \lg LD_{50(2)}} = \sqrt{S^2_{\lg LD_{50(1)}} + S^2_{\lg LD_{50(2)}}} \quad (5)$$

式中：S<sub>lgLD<sub>50</sub>(1)</sub>-概率单位法求得的半数致死量对数标准差，S<sub>lgLD<sub>50</sub>(2)</sub>-寇氏法求得的半数致死量对数标准差，S<sub>lgLD<sub>50</sub>(1)-lgLD<sub>50</sub>(2)</sub>-两种方法求得的半数致死量对数差值的标准差。

## 2 结果与讨论

### 2.1 概率单位法求 T-2 毒素对不同生长期凡

#### 纳滨对虾的 LD<sub>50</sub>

本研究考察了 T-2 毒素对虾卵、幼虾、成虾三个不同生长期凡纳滨对虾的急性毒性。每一生长期有五个剂量组和一个空白对照组，每组实验共有三个平行，实验结果取相应的平均值（表 1）。同一生长期，对虾死亡率随着 T-2 毒素剂量的增加而增加；同一剂量下，不同生长期对虾的死亡率也各不相同。

表 1 T-2 毒素对对虾卵、幼虾、成虾的急性毒性相关参数

Table 1 Acute toxicity parameters for T-2 toxin in shrimp eggs, juvenile shrimps, and adult shrimps

样本名称	组别	实验虾数 N	剂量/(mg/kg bw)	剂量对数	死亡数 n	死亡率 p	存活率 q	概率单位
虾卵(L)	L <sub>∞</sub>	10	0	/	0	0.00±0.00	1.00	2.50
	L <sub>1</sub>	10	0.50	-0.30	1	0.10±0.08	0.90	3.72
	L <sub>2</sub>	10	1.20	0.00	2	0.20±0.08	0.80	4.16
	L <sub>3</sub>	10	2.40	0.30	4	0.40±0.16	0.60	4.75
	L <sub>4</sub>	10	4.80	0.60	7	0.70±0.14	0.30	5.53
	L <sub>5</sub>	10	12.20	0.90	9	0.90±0.08	0.10	6.28
幼虾(Y)	Y <sub>∞</sub>	10	0	/	1	0.10±0.08	0.90	3.72
	Y <sub>1</sub>	10	0.50	-0.30	2	0.20±0.08	0.80	4.16
	Y <sub>2</sub>	10	1.20	0.00	3	0.30±0.14	0.70	4.28
	Y <sub>3</sub>	10	2.40	0.30	6	0.60±0.14	0.40	5.25
	Y <sub>4</sub>	10	4.80	0.60	7	0.70±0.08	0.30	5.53
	Y <sub>5</sub>	10	12.20	0.90	8	0.80±0.16	0.20	5.85
成虾(C)	C <sub>∞</sub>	10	0	/	0	0.00±0.00	1.00	2.50
	C <sub>1</sub>	10	0.50	-0.30	0	0.00±0.00	1.00	2.50
	C <sub>2</sub>	10	1.20	0.00	1	0.10±0.08	0.90	3.72
	C <sub>3</sub>	10	2.40	0.30	3	0.30±0.16	0.70	5.53
	C <sub>4</sub>	10	4.80	0.60	6	0.60±0.14	0.40	5.25
	C <sub>5</sub>	10	12.20	0.90	8	0.80±0.08	0.20	5.85

以剂量对数为横坐标，以概率单位为纵坐标，采用 Excel 软件拟合得到不同生长期对虾对数剂量和概

率单位线性回归曲线, 其中虾卵的线性回归曲线为  $y=2.16x+4.24(R^2=0.99)$ , 幼虾为  $y=1.47x+4.61(R^2=0.97)$ , 成虾为  $y=2.74x+3.54(R^2=0.98)$ 。

根据概率单位曲线及相应的方程, 计算出虾卵的  $LD_{50}$  值为  $2.26\pm 0.01$  mg/kg bw, 95%的置信区间为  $0.89\sim 5.76$  mg/kg bw; 幼虾的  $LD_{50}$  值为  $1.72\pm 0.02$  mg/kg bw, 95%的置信区间为  $0.65\sim 4.35$ ; 成虾的  $LD_{50}$  值为  $3.44\pm 0.02$ , 95%的置信区间为  $1.17\sim 10.10$  (表 2)。T-2 毒素对幼虾的急性毒性最强, 虾卵次之, 成虾最弱。

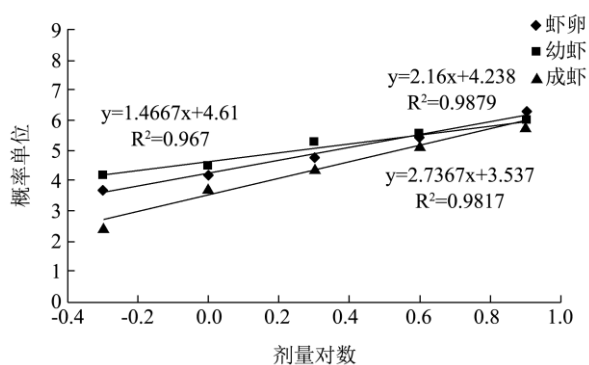


图 1 剂量对数与概率单位关系曲线

Fig.1 Relationship between logarithmic dose and probits

表 2 概率单位法分析不同生长期对虾暴露 T-2 毒素的  $LD_{50}$

Table 3  $LD_{50}$  values for T-2 toxin, as determined using the probability unit method in shrimps at different growth stages

组别	回归方程	$R^2$	$lgLD_{50}$	$LD_{50}$	$S_{lgLD_{50}}$	95%的置信区间
虾卵	$Y=2.16X+4.24$	0.99	0.35	$2.26\pm 0.01$	0.21	0.89~5.76
幼虾	$Y=1.47X+4.61$	0.97	0.23	$1.72\pm 0.02$	0.22	0.65~4.35
成虾	$Y=2.74X+3.54$	0.98	0.54	$3.44\pm 0.02$	0.16	1.17~10.10

注: Y 为虾死亡率概率单位, X 为剂量对数,  $LD_{50}$  单位为 mg/kg bw。

表 3 寇氏法计算所得的 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾的

$LD_{50}$

Table 2  $LD_{50}$  values for T-2 toxin, as determined using improved Karber's method in *Lifopenaeus vannamei* at different growth stages

组别	$lgLD_{50}$	$LD_{50}(\text{mg/kg bw})$	$S_{lgLD_{50}}$	95%的置信区间
虾卵	0.38	$2.40\pm 0.02$	0.08	1.64~3.52
幼虾	0.27	$1.87\pm 0.01$	0.09	1.22~2.85
成虾	0.51	$3.25\pm 0.02$	0.08	2.27~4.65

### 2.3 半数致死量 $LD_{50}$ 的 u 检验

设概率单位法求出的半数致死量为  $LD_{50(1)}$ , 寇氏法求出的半数致死量为  $LD_{50(2)}$ 。本研究采用 u 检验来检验半数致死量的显著性差异。检测水平为  $\alpha=0.05$ , 单尾检验。对于显著水平  $\alpha=0.05$ , 查正态分布表, 可得临界值  $u_{0.05}=1.65$ 。当  $u<1.65 (u_{0.05})$ ,  $p>0.05$ , 表明使用两种方法求得的  $LD_{50}$  无显著性差异; 若

### 2.2 寇氏法计算 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾的 $LD_{50}$

采用寇氏法计算得到虾卵  $LD_{50}$  为  $2.40\pm 0.02$  mg/kg bw, 95%的置信区间为  $1.64\sim 3.52$ ; 幼虾的  $LD_{50}$  值为  $1.87\pm 0.01$  mg/kg bw, 95%的置信区间为  $1.22\sim 2.85$ ; 成虾的  $LD_{50}$  值为  $3.25\pm 0.02$  mg/kg bw, 95%的置信区间为  $2.27\sim 4.65$  (表 3)。对不同生长期凡纳滨对虾的  $LD_{50}$  值进行比较, 结果发现成虾的  $LD_{50}$  值最大, 这表明 T-2 毒素在成年凡纳滨对虾体内蓄积的可能性更大, 从而带来的潜在食品安全问题也更应该被人们重视; 幼虾  $LD_{50}$  值最小, 这表明此生长期对虾对 T-2 毒素的毒害作用最敏感, 适宜作为水产环境中监测有害物质的生物标志物。造成这样的结果可能是因为: 幼虾生长发育快, 蜕壳频繁; 随着生长, 蜕壳频率逐渐变小, 到了成虾时达到顶峰, 因而对毒素的耐受性不同; 黄乾生等<sup>[13]</sup>发现虾肝胰腺 NAGase 的活力呈现发育中期低两头高的特点, 这可能也会影响其对 T-2 毒素的耐受能力。

$u>1.65$ ,  $p<0.05$  则说明两种方法具有显著性差异。检测结果如下:

1) 提出假设。

$H_0: u \leq u_{0.05}$ , 两种方法求得的半数致死量来自同一总体无显著性差异。

$H_A: u > u_{0.05}$ , 两种方法求得的半数致死量来自不同总体具有显著性差异。

2) 确定显著水平, 取  $\alpha=0.05$ , 单尾检验。

3) 检验计算。

由 (4)、(5) 式, 对实验数据进行计算, 计算结果如表 4。

4) 统计判断

寇氏法和概率单位法所得的虾卵的 u 值为  $u=0.12$ , 小于  $u_0=1.65$ ,  $p>0.05$ , 所以不能否定  $H_0$ , 推断两种方法求得的虾卵的  $LD_{50}$  无显著性差异; 幼虾的 u 值为  $u=0.16 < u_0=1.65$ ,  $p>0.05$ , 所以否定  $H_A$ , 推断两种方法求得的幼虾的  $LD_{50}$  无显著性差异; 成虾的 u

值为  $u=0.14 < u_0=1.65$ ,  $p > 0.05$ , 所以否定  $H_A$ , 推断两种方法求得的成虾的  $LD_{50}$  无显著性差异。

通常, 不同染毒条件下得到的  $LD_{50}$  值会有所差异, 测得的 T-2 毒素对凡纳滨对虾的肌肉注射的  $LD_{50}$  为  $30 \text{ mg/kg bw}^{[3]}$ ; T-2 毒素对凡纳滨对虾的经口  $LD_{50}$  为  $1.22 \text{ mg/kg bw}^{[14]}$ 。这主要与实验动物的年龄、种类、健康状况、饲养方式、染毒方式、计算方式以及

实验环境等多重因素有关。本实验利用概率单位法和寇氏法两种方法计算 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾的  $LD_{50}$  值, 得到了两组  $LD_{50}$  值。虽然经过  $u$  检验说明两种方法的计算结果无显著性差异, 但是其数值大小还是有所差异, 这主要可能是由计算方法不同所致。为了消除差异, 提高结果的准确性, 取两种方法的平均值作为最终的  $LD_{50}$  值 (表 5)。

表 4 两种方法计算所得  $LD_{50}$  显著性差异检验

**Table 4 Analysis of the differences in significance level of  $LD_{50}$  values calculated using the two methods**

	生长期					
	虾卵		幼虾		成虾	
	概率单位法	寇氏法	概率单位法	寇氏法	概率单位法	寇氏法
$lgLD_{50}$	0.35	0.38	0.23	0.27	0.54	0.51
$LD_{50}$	2.16	1.71	1.72	1.87	3.48	3.25
$lgLD_{50(1)}-lgLD_{50(2)}$	-0.03		-0.04		0.02	
$S_{lgLD50}$	0.21	0.08	0.22	0.09	0.16	0.08
$S_{lgLD50(1)}-lgLD50(2)$	0.22		0.24		0.17	
$u$	0.12		0.16		0.14	

注:  $LD_{50}$  单位为  $\text{mg/kg bw}$ 。

表 5 两种方法求得的 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾的  $LD_{50}$  值

**Table 5  $LD_{50}$  values calculated using the two methods in *Lifopenaeus vannamei* at different growth stages**

生长期	计算方法		平均值
	概率单位法	寇氏法	
虾卵	$2.26 \pm 0.01$	$2.40 \pm 0.02$	2.33
幼虾	$1.72 \pm 0.02$	$1.87 \pm 0.01$	1.79
成虾	$3.44 \pm 0.02$	$3.25 \pm 0.02$	3.34

注: 单位为  $\text{mg/kg bw}$ 。

### 2.4 趋势斜率分析

从剂量对数与概率单位曲线 (图 1) 可知, 虾卵的曲线斜率为 2.16, 幼虾的为 1.46, 成虾的为 2.13。由此可知, 在相同条件下, T-2 毒性对成虾的毒性反应更加剧烈, 对幼虾的毒性反应要相对平缓, 即 T-2 毒素对成虾的急性毒性最强, 幼虾最弱, 毒性大小的差异与概率单位法和寇氏法求得的  $LD_{50}$  的结果相互矛盾。因此, 判断一个外源化合物毒性, 仅采用一种方法描述其毒性是不准确的, 为了弥补单一方法的不足, 本研究在采用寇氏法和概率单位法计算 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾的  $LD_{50}$  的同时结合斜率分析, 所以用来描述 T-2 毒性更具灵敏和准确。

本实验通过 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾急性毒性试验, 记录了不同生长期凡纳滨对虾暴露于 T-2 毒素的急性毒性现象。尽管证明了幼年期的凡纳滨对

虾适宜做生物标志物, 但是在实生产生活中, 生物有机体往往暴露于复合污染物而不是单一化合物中。因此, 研究复合污染暴露体系下生物标志物效应, 将会大大提高生物标志物在指示实际生产中暴露和效应的准确性和灵敏度, 使生物标志物检测能更准确地反映真实的环境状况<sup>[11]</sup>。尽管  $LD_{50}$  是评价急性毒性的重要指标, 但是仅仅依据  $LD_{50}$  进行急性毒性评价是不妥当的。因为  $LD_{50}$  仅能反应毒性大小不能反应毒性其他指标。因而, 在评价急性毒性时, 我们还应结合中毒症状、中毒特征、95%的置信区间等其他参数。

### 3 结论

本实验研究了 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾的急性毒性效应, 采用概率单位法和寇氏法相结合得到了 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾经口一次性暴露的  $LD_{50}$  值 (虾卵  $LD_{50}$  为  $2.33 \text{ mg/kg bw}$ , 幼虾  $LD_{50}$  为  $1.79 \text{ mg/kg bw}$ , 成虾  $LD_{50}$  为  $3.34 \text{ mg/kg bw}$ ), 两种方法求得的  $LD_{50}$  可信度高, 经  $u$  检验两种方法求得的  $LD_{50}$  并无显著差异。通过比较 T-2 毒素对不同生长期凡纳滨对虾经口一次性暴露的  $LD_{50}$  值, 表明幼年期凡纳滨对虾 T-2 毒素最为敏感, 适宜做生物标志物。

### 参考文献

[1] Gutleb AC, Morrison E, Albertina JM. Cytotoxicity assays for mycotoxins produced by Fusarium strains: a review [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2002, 11: 309-

- 320
- [2] 杜继红,图门巴雅尔,李福元,等.T-2 毒素毒性作用研究进展[J].中国畜牧兽医,2014,41(7):243-247  
DU Ji-hong, TU Menbatuya, LI Fu-yuan, et al. Research review of T-2 toxin [J]. Animal Husbandry and Veterinary, 2014, 41(7): 243-247
- [3] 施琦.T-2 毒素的自然发生与降解及其在对虾中的蓄积规律[D].广东海洋大学硕士论文,2013  
SHI Qi. T-2 toxin accuring and degradation in natural environment and its accumulation in *Litopenaeus vannamei* [D]. Guangdong Ocean university Master's Dissertation, 2013
- [4] Jačević Vesna, Bokonjić D, Stojiljković M, et al. Morphometric changes of cardiac mast cells in rats acutely poisoned by T-2 toxin [J]. Acta Veterinaria, 2007, 57(1): 47-57
- [5] Judith M Grizzle, David B Kersten, Malcolm D McCracken, et al. Determination of the acute 50% lethal dose T-2 toxin in adult bobwhite quail: additional studies on the effect of T-2 mycotoxin on blood chemistry and the morphology of internal organs [J]. Avian Diseases, 2004, 48(2): 392-399
- [6] Bundit O, Kanghae H, Phromkunthong w, et al. Effects of mycotoxin T-2 and zearalenone on histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricious) [J]. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 2006, 28(5): 937-949
- [7] Hooft J M, Elmor H I, Encarnacao P, et al. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is extremely sensitive to the feed-borne Fusarium mycotoxin deoxynivalenol (DON) [J]. Aquaculture, 2011, 311: 224-232
- [8] Giovanni Lemos de Mello, Hilton Amaral Júnior, Silvano Garcia, et al. Acute toxicity of pyrazosulfuron-ethyl and permethrin to juvenile *Litopenaeus vannamei* [J]. Acta Scientiarum. Biological Sciences, 2011, 33(1): 1-6
- [9] Stephen E. Lumor, Francisco Diez-Gonzalez, Theodore P. Labuza. Detection of warfare agents in liquid foods using the brine shrimp lethality assay [J]. Journal of Food Science, 2011, 76(1): 16-19
- [10] 沈明浩,易有金,王雅玲.食品毒理学[M].北京:科学出版社,2014  
SHEN Ming-hao, YI You-jin, WANG Ya-ling. Food toxicology [M]. Beijing: Science Press, 2014
- [11] 杨雷.鱼类测试抗生素废水和菌渣生物毒性的试验研究[D].河北科技大学硕士学位论文,2012  
YANG Lei. Study on biological toxicity of antibiotic wastewater and bacteria residue to fish [D]. Hebei University of Science and Technology, 2012
- [12] 吴占福.生物统计学[M].北京:科学出版社,2005  
WU Zhan-fu. Biostatistics [M]. Beijing: Science Press, 2005
- [13] 黄乾生,谢晓兰,石艳,等.不同生长期凡纳滨对虾肝胰腺NAGase 的基本性质变化[J].厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(6): 847-850  
HUANG Qian-sheng, XIE Xiao-lan, SHI Yan, et al. Comparison of the properties of NAGase from the hepatopancreas of prawn (*Litopenaeus vannamei*) in different growth stages [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2006, 45(6): 847-850
- [14] 王雅玲,代喆,孙力军,等.T-2 毒素对凡纳滨对虾的经口急性毒性效应研究[J].现代食品科技,2015,31(1):43-47  
WANG Ya-ling, DAI Zhe, SUN Li-jun, et al. The acute toxic effect of T-2 toxin on *Litopenaeus vannamei* by feeding [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(1): 43-47