

自然环境中 T-2 毒素降解菌的筛选与鉴定

施琦^{1,2} 王雅玲^{1,3*} 孙力军¹ 代喆¹ 孙颖峰¹ 廖建萌² 陈宏² 励建荣^{3,4*}

- (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. 湛江市质量计量监督检测所 广东 湛江 524022)
- (3. 浙江工商大学 食品科学与生物工程学院 浙江 杭州 310035)
- (4. 渤海大学 辽宁省食品安全重点实验室 辽宁 锦州 121013)

摘要: 【目的】在自然环境中筛选和鉴定能够降解 T-2 毒素的菌株。【方法】取对虾养殖池水样、养殖池沉积样品和对虾混合饲料中分离到的镰孢菌, 于 GYM 产毒培养基中培养 14 d 后引入自然条件下气载细菌, 继续培养至 28 d, 采用 LC-MS/MS 检测其中 T-2 毒素含量。然后结合稀释涂布、平板划线、革兰氏染色、镜检, 从镰孢菌产毒培养液中毒素含量明显降低的菌悬液中筛选出 T-2 毒素降解菌, 用 16S rRNA 分析方法对其进行系统发育分析及菌种鉴定, 并验证两菌株的降毒能力与不同基质中二者的联合降毒能力。【结果】以从对虾养殖环境中分离到的 5 株镰孢菌作为试验菌种, 在其产毒培养过程中分离到 2 株 T-2 毒素降解菌, 16S rRNA 鉴定结果分别为弯曲假单胞菌和尼泊尔葡萄球菌, 对 T-2 毒素的降解率分别为 90.9% 和 85.5%, 但两者降毒能力并无显著差异($P>0.05$); 其联合作用也有较好降毒效果, 与两菌株单独作用无显著差异($P>0.05$), 不同基质对其联合降毒作用影响不大($P>0.05$)。【结论】新的 T-2 毒素降解菌的发现为进一步探明 T-2 毒素降解基因和开发 T-2 毒素生物降解酶提供了研究基础。

关键词: T-2 毒素, 镰孢菌, 降解菌

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31171634); “十二五”国家科技支撑计划项目(No. 2012BAD29B06); 湛江市科学计划项目(No. 2011D02)

*通讯作者: 王雅玲: Tel: 86-759-2369269; 信箱: wangylchina@163.com

励建荣: Tel: 86-416-3400008; 信箱: lijianrong@zjgsu.edu.cn

收稿日期: 2012-08-15; 接受日期: 2012-12-27

Screening and identification of T-2 toxin-degrading strains from natural environment

SHI Qi^{1,2} WANG Ya-Ling^{1,3*} SUN Li-Jun¹ DAI Zhe¹ SUN Ying-Feng¹
LIAO Jian-Meng² CHEN Hong² LI Jian-Rong^{3,4*}

- (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, Guangdong 524088, China)
(2. Zhanjiang Institute of Supervision & Test on Quality & Measure, Zhanjiang, Guangdong 524022, China)
(3. College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang 310035, China)
(4. Liaoning Key Laboratory of Food Safety, Bohai University, Jinzhou, Liaoning 121013, China)

Abstract: [Objective] This study was to find the T-2 toxin-degrading strains, which were isolated and identified from natural environment. **[Methods]** *Fusarium* producing T-2 toxin were isolated from the samples of shrimp culture pond water, pond sediment and shrimp mixed feed, respectively. When it was cultured in GYM medium for 14 days, the airborne bacteria in nature environment were inoculated. The content of T-2 toxin was detected by LC-MS/MS at 28 day in its cultivation. T-2 toxin-degrading strains were screened from the bacteria suspension in which the content of T-2 toxin has obviously decreased with dilution spread method, plat streaking method, Gram stain method and microscopic examination. And then the identification and phylogenetic analysis of the screened strains were performed by 16S rRNA method. The method was also used to validate the toxin-degrading capacities of the screened strains respectively and the combined effect of them in different matrixes. **[Results]** Two T-2 toxin-degrading strains were screened out during the cultivation of five *Fusarium* strains which were isolated as indicator bacteria from shrimp culture environment. The results of 16S rRNA analysis showed that they were *Pseudomonas geniculata* and *Staphylococcus nepalensis*, and their degradation rates to T-2 toxin were 90.9% and 85.5% respectively. But there was no significant difference between the degradation effects of the two strains ($P>0.05$). In addition, the combined effect was good but had no significant difference with the single strain's degradation effect ($P>0.05$). And the combined degradation effects were not much affected by different matrixes ($P>0.05$). **[Conclusion]** This new discovery established a basis for further ascertaining T-2 toxin degrading genes and developing T-2 toxin degrading enzymes.

Keywords: T-2 toxin, *Fusarium*, Degrading strains

T-2 毒素是毒性最强的真菌毒素, 为单端孢霉烯族毒素的典型代表, 它可由多种真菌产生, 主要来自镰孢菌属, 在自然界中广泛存在^[1]。自

1966 年日本冈山水产实验所养殖的日本对虾上发现寄生镰孢菌^[2-3]后, 在多种对虾上均分离到镰孢菌^[2]。研究人员普遍认为产 T-2 毒素镰孢菌

已成为养殖虾类中危害较严重的因素之一。

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,常温放置6-7年或高温至200 °C 毒力仍无减弱^[4]。已有研究发现白虾与黑虎虾暴露于1.0-2.0 mg/kg 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^[5-6]。T-2 毒素对呼吸系统和软组织有损害作用,对生物膜功能及多种酶活性也均有损害^[7],并且它能抑制关键蛋白质与免疫血细胞的联合,减低免疫活性物质和巨噬细胞的数量,损伤免疫系统^[8]。所以,对虾养殖环境中的 T-2 毒素不仅可能使对虾疫病暴发造成严重的经济损失,而且 T-2 毒素可能通过食物链的传递,对人类健康构成巨大威胁。因此,对虾养殖环境中 T-2 毒素的降解不仅有利于对虾养殖经济效益的提高,更是保证人类健康不可忽略的重要步骤。

因物理和化学方法降毒不仅收效甚微,且增加了不安全性^[9],所以真菌毒素的生物降解法具有较好的前景。国外有研究者报道灌木酒神菊属(*Baccharis* spp.)能将 T-2 毒素氧化成 3'-OH T-2 或 3'-OH HT-2^[10-11],降低其毒性。Young 等^[12]发现鸡肠道混合微生物可清除包括 T-2 在内的各种单端孢霉烯族化合物。但目前关于 T-2 毒素的微生物降解菌的报道仍然较少,国内在这方面的研究更是空白。

本实验室从对虾养殖环境中分离产 T-2 毒素镰孢菌,以此作为试验产毒菌种筛选能降解 T-2 毒素的降解菌,并对其进行鉴定。为进一步探明 T-2 毒素降解基因和开发 T-2 毒素生物降解酶提供研究基础。

1 材料与amp;方法

1.1 菌株

产毒镰孢菌分别采自湛江市湖光镇临西村村

聪对虾养殖场的养殖池水样(Fs1102-1, Fs101-3),养殖池沉泥样品(Fw1101-7)和对虾混合饲料(Ff3102-4, Ff2101-1)。

1.2 培养基

1.2.1 营养琼脂培养基(NA): 蛋白胨 10 g, 牛肉膏 3 g, 氯化钠 5 g, 琼脂 15-20 g, 蒸馏水 1 L。

1.2.2 镰孢菌选择性培养基(FS): 蛋白胨 15 g, 琼脂 20 g, 磷酸二氢钾 1 g, 硫酸镁晶体 0.5 g, 盐酸环丙星沙 0.3 g, 阿莫西林 0.1 g, 五氢硝基苯 0.2 g, 马铃薯葡萄糖琼脂 39 g, 蒸馏水 1 L。

1.2.3 镰孢菌产毒培养基(GYM)^[13]: NH₄H₂PO₄ 1 g, KCl 0.2 g, MgSO₄·7H₂O 0.2 g, 葡萄糖 10 g, 酵母膏 5 g, CuSO₄·5H₂O 0.005 g, ZnSO₄·7H₂O 0.01 g, 蒸馏水 1 L。

1.3 主要试剂与仪器

T-2 毒素标准品(Enzo, USA, 纯度 ≥ 98%); 甲醇(一级色谱纯, 天津四友精细化学品有限公司, 纯度 ≥ 99.9%); 乙酸铵(Sigma-Aldrich); 超纯水(Arium 611VF); 其余均为国产分析纯试剂。液质联用仪为 TSQ Quantum Access, 购于 Thermo Scientific 公司; 超声波仪购于 Autoscience; 涡旋振荡仪购于 Heidolph 公司; 离心机购于上海安亭科学仪器厂; 氮吹仪购于 Organomation Associates, Inc 公司。

1.4 对虾养殖环境中镰孢菌的产毒培养

1.4.1 培养条件: 挑取分离到的镰孢菌接入 GYM 培养基, 于培养箱中 25 °C 光照培养 12 h, 6 °C 避光培养 12 h, 交替进行 14 d。

1.4.2 T-2 毒素提取与检测: 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, 4 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 重复提取 3 次。合并上清液, 60 °C N₂ 吹干后用 1 mL 甲醇 + 5 mmol/L 乙酸铵溶液 (3+7; V+V)+0.1%甲酸溶解, 过 0.22 μm 滤膜。

仪器条件: 色谱柱: Hypersil GOLD

(150 mm×2.1 mm, 5 μm, 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 μL; 针头到瓶底距离: 1.0 mm; 进样速度: 10.0 μL/s; 淋洗体积: 1 500 μL; 冲洗体积: 1 500 μL; 淋洗速度: 100.00 μL/s。质谱扫描模式: ESI(+); 喷雾器电压: 4 500 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。

1.5 T-2 毒素降解菌的分离与筛选

将引入气载细菌的产毒菌株菌悬液按 1.4.1 方法继续培养至 28 d。选取毒素量降低的菌悬液进行菌株的分离培养。

菌悬液旋涡 30 s 后制得浓度梯度为 10^{-1} – 10^{-7} 的菌悬液稀释液。分别取各梯度稀释液 100 μL 于 FS 和 NA 平板上, 均匀涂布, NA 平板 30 °C±1 °C 培养 48 h, FS 平板 26 °C±1 °C 培养 72 h 后分别计算细菌与镰孢菌菌落总数。然后根据菌落形态、大小、颜色、形状等选择有代表性的单菌落, 编号后用三段划线法划线, 将平板倒置于 30 °C±1 °C 培养箱中恒温培养 48 h。革兰氏染色镜检观察, 筛选出样品中的共有菌株为可能的降毒菌株。然后用 VITEK 2 革兰氏阴性细菌鉴定卡进行生化特征分析。

1.6 16S rRNA 的 PCR 扩增和序列测定

PCR 引物采用 (+) 27F: 5'-AGAGTTTG ATCMTGGCTCAg-3'; (-) 1 492 R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。PCR 扩增体系 (50 μL) 为: DNA 模板 2 μL; Eubac27F (20 μmol/L) 1 μL; Eubac1 492R (20 μmol/L) 1 μL; 10×PCR buffer 5 μL; Taq DNA Polymerase (5 U/μL) 0.3 μL; dNTPs (Each 10.0 mmol/L) 1 μL; Mg²⁺ (2.5 mmol/L) 4 μL; ddH₂O 35.7 μL。PCR 扩增条件: 94 °C 5 min; 94 °C 50 s, 52 °C 50 s, 72 °C 60 s, 共 30 个循环; 72 °C 10 min。扩增产物测序工作由海珠科技园公司完成。

测得序列通过 BLAST 在 GenBank+EMBL+DDBJ+PDB 基因库中进行同源性比较^[14], 用 MEGA 4.0 软件进行系统发育树分析。

1.7 分离菌株降解 T-2 毒素能力验证

分别将筛选出的两株菌接种到含 5 ng T-2 毒素标准溶液试管中, 30 °C±1 °C 培养 72 h 后用 LC-MS/MS 检测其中毒素含量。然后将两株菌同时接入不同镰孢菌产毒基质中, 检测接种前后毒素含量变化来考察其联合降毒效果。

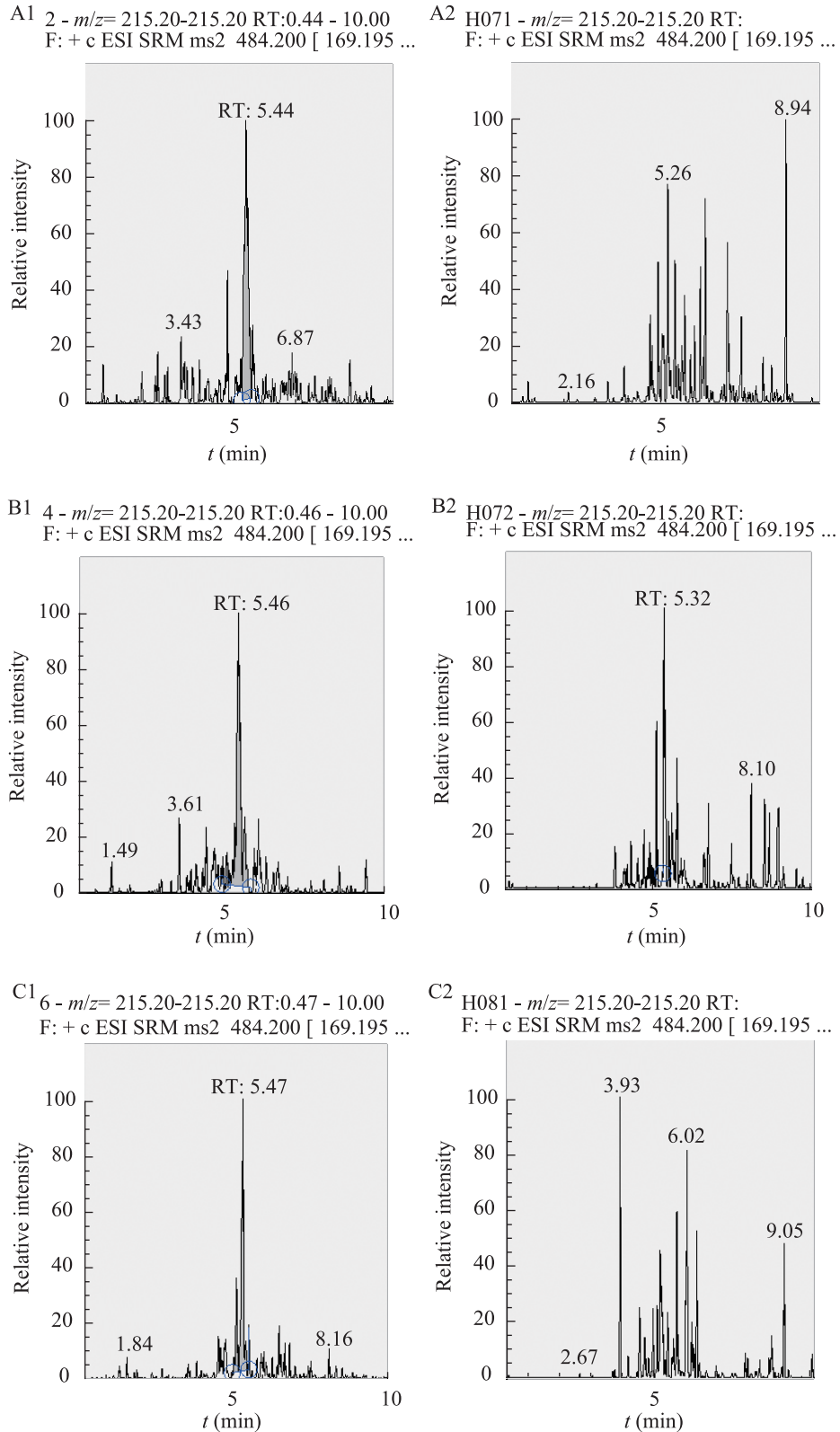
2 结果

2.1 降解菌的分离与筛选

在由本团队从对虾养殖场采集并分离到的 5 株镰孢菌属菌株(Fs1102-1, Fw1101-7, Fs101-3, Ff3102-4, Ff2101-1)产毒培养 14 d 后, 经 LC-MS/MS 方法检测结果显示均有 T-2 毒素产生, 继续培养至 28 d 后, Fs1102-1、Fw1101-7、Fs101-3、Ff2101-1 中毒素含量明显减少甚至低于仪器检出限(图 1)。

取 28 d 产毒菌悬液中毒素含量明显降低的样品稀释液于营养琼脂平板和 FS 平板涂布培养后, 计算其中细菌和镰孢菌总数(表 1)。根据 GB/T 4789.2-2008^[15], 营养琼脂平板选取菌落数在 30–300 CFU 质检、无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。根据 GB/T 4789.2-2010^[16], FS 培养基平板选取平板中真菌数落在可计数范围内 (10–150)的数据进行样品的总真菌数计算。

然后经三段划线法划线, 根据单菌落含水状态、外观形态、相互关系、形态特征、透明度与培养基的结合程度、菌落颜色、菌落正反面颜色差异、菌落边缘、细胞生长速度、气味等指标从 Fw1102-1 培养液中分离得到 4 株异生菌株, 从 Fs101-3 分离到 6 株, Fw1101-7 与 Ff2101-1 各分离到 7 株。对分离到的菌株进行革兰氏染色镜检。



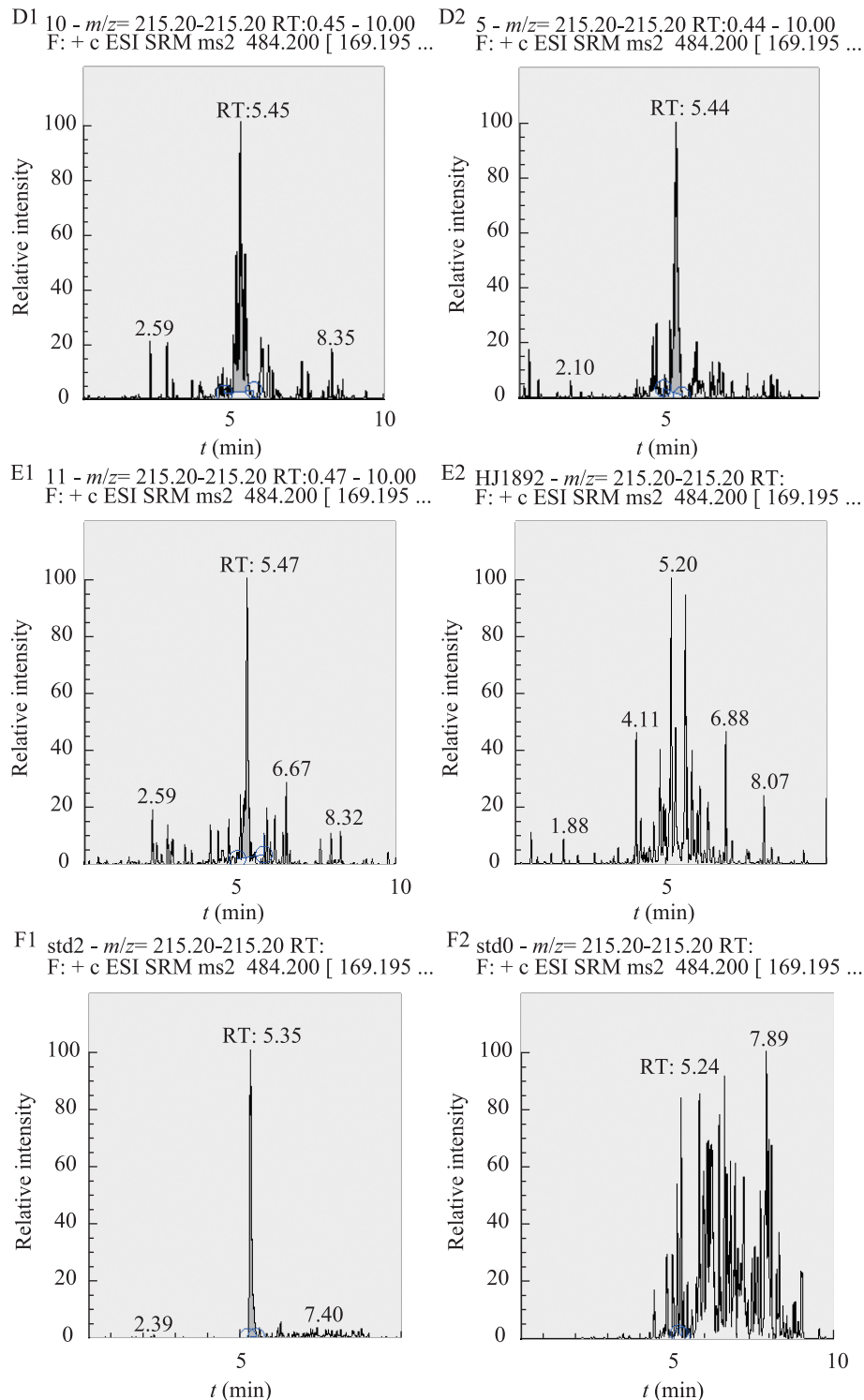


图 1 镰孢菌产 T-2 毒素培养液样品的离子流图

Fig. 1 Ion chromatograms of T-2 toxin-producing *Fusarium* suspension samples

注: A: Fs1102-1; B: Fw1101-7; C: Fs101-3; D: Ff3102-4; E: Ff2101-1; F1: 标准溶液; F2: 空白对照。1: 培养时间 14 d; 2: 培养时间 28 d。
Note: A: Fs1102-1; B: Fw1101-7; C: Fs101-3; D: Ff3102-4; E: Ff2101-1; F1: Standard solution; F2: Blank control. 1: Culture time: 14 d; 2: Culture time: 28 d.

表 1 样品中细菌与镰孢菌含量
Table 1 The content of bacteria and *Fusarium* in samples

| 样品编号 Sample marks | 细菌 Bacteria (CFU/mL) | 镰孢菌 <i>Fusarium</i> (CFU/mL) |
|----------------------|-------------------------|---------------------------------|
| Fw1102-1 | 9.25×10^8 | 4.35×10^4 |
| Fs101-3 | 2.85×10^7 | 1.39×10^5 |
| Fw1101-7 | 1.22×10^8 | 6.44×10^2 |
| Ff2101-1 | 4.22×10^8 | 7.95×10^4 |

表 2 菌株 F2101-1-5 与 W101-7-7 的生化特征
Table 2 Biochemical characteristics of F2101-1-5 and W101-7-7

| 项目 Test items | F2101-1-5 | W101-7-7 | 项目 Test items | F2101-1-5 | W101-7-7 |
|--|-----------|----------|--|-----------|----------|
| 丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶 Alanine-phenylalanine-proline aromatic amine enzymes | + | - | 蔗糖 Sucrose | - | - |
| 侧金盏花醇 Adonitol | - | - | D-塔格糖 D-tagatose | - | - |
| 吡咯烷基芳胺酶 Pyrrole alkyl aromatic amine en- zymes | - | + | D-海藻糖 D-trehalose | - | - |
| L-阿拉伯醇 L-arab alcohol | - | - | 柠檬酸盐 (钠) Citrate (Na) | - | + |
| D-纤维二糖 D-cellobiose | - | + | 丙二酸盐 Malonate | - | + |
| β -半乳糖苷酶 β -Galactosidase | - | - | 5-酮-葡萄糖苷 5-Ketone-glycosidase | - | - |
| H ₂ S 产生 Hydrogen sulfide | - | - | 乳酸盐产碱 Lactate production base | + | - |
| β -N-乙酰葡萄糖苷酶 β -N-acetyl glycosidase enzymes | - | - | N-乙酰- β -半乳糖氨酶 N-acetyl- β -galactose ammonia enzyme | - | - |
| 谷氨酰芳胺酶 Glutamine aromatic amine en- zymes | - | - | 琥珀酸盐产碱 Succinic acid salt produc- tion base | + | - |
| D-葡萄糖 D-glucose | - | + | α -葡萄糖 α -Glucose | - | + |
| γ -谷氨酰转移酶 γ -Glutamine transferase | + | - | α -半乳糖苷酶 α -Galactosidase | - | - |
| 葡萄糖发酵 Glucose fermentation | - | - | 磷酸酶 Phosphatase | + | + |
| β -葡萄糖苷酶 β -Glycosidase enzymes | + | + | 氨基乙酸芳胺酶 Amino acetic acid en- zyme aromatic amine | - | - |
| D-麦芽糖 D-maltose | - | + | 鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase | - | - |
| D-甘露醇 D-mannitol | - | + | 赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase | - | - |
| D-甘露糖 D-mannose | - | + | 组氨酸同化 Histidine assimilation | - | - |
| | | | | | (待续) |

| | | | | (续表) | | |
|----------------------------------|---|---|--|---|---|---|
| β-木糖苷酶 | - | + | | COURMARATE | - | - |
| β-Glycosidase wood | | | | | | |
| β-丙氨酸芳胺酶 | - | - | | β-葡萄糖苷酸酶 | - | - |
| β-Enzyme alanine aromatic amine | | | | β-Glucuronidase | | |
| L-脯氨酸芳胺酶 | + | - | | 0/129 耐受 | - | - |
| L-proline aromatic amine enzymes | | | | 0/129 tolerance | | |
| 酪氨酸芳胺酶 | - | - | | 谷氨酸-甘氨酸-精氨酸 | - | - |
| Tyrosine enzyme aromatic amine | | | | 芳胺酶 | | |
| | | | | Glutamic acid-glycine-arginine aromatic amine enzymes | | |
| 古老糖 | - | + | | L-苹果酸盐同化 | - | - |
| Old sugar | | | | L-malate assimilation | | |
| 酯酶 | + | - | | ELLMAN | - | - |
| Esterase | | | | | | |
| 尿素酶 | - | - | | L-乳酸盐同化 | - | - |
| Urease | | | | L-lactic acid salt of assimilation | | |
| D-山梨醇 | - | + | | | | |
| D-sorbitol | | | | | | |

由于 4 个样品中 T-2 毒素含量均降低, 又处于同一培养条件下, 故 4 个样品中的共有异生菌株为最可能具有 T-2 毒素降解能力的菌株。由上述方法筛选出样品共有菌株 F2101-1-5 和 W101-7-7 为 T-2 毒素降解菌。由 VITEK 2 革兰氏阴性细菌鉴定卡得到的两菌株生化特征见表 2。

2.2 16S rRNA 分析结果

扩增得到 16S rRNA 片段, 测得 F2101-1-5 全长序列为 1 419 bp, W101-7-7 为 1 424 bp。同源性比对结果显示, F2101-1-5 菌株与弯曲假单胞菌 (*Pseudomonas geniculata*) 的相似性为 100%, W101-7-7 菌株与尼泊尔葡萄球菌 (*Staphylococcus nepalensis*) 的相似性为 99.929%, 系统发育树分析结果见图 2。

2.3 降毒能力验证

将分离得到的菌株接入 T-2 毒素标准溶液后与对照组加标空白培养液进行比较, 两菌株对 T-2 毒素单独的降解效果与两菌株同时作用于不

同镰孢菌产毒基质中的联合降毒效果对比分析。结果表明, 菌株 F2101-1-5 和 W101-7-7 均有良好的降解 T-2 毒素的能力, 但两者间差异并不显著 ($P>0.05$)。两菌株联合作用对各产毒培养液中 T-2 毒素的降解也有较好的效果, 与两株菌单独作用于 T-2 毒素溶液比较, 联合作用效果差异不显著 ($P>0.05$)。不同基质对其联合效果影响不大 ($P>0.05$) (表 3)。

3 讨论

本研究从自然环境中分离得到两株 T-2 毒素降解菌, 均有良好降毒效果, 但联合作用与两菌株单独作用效果无显著差异, 说明两菌株间既无协同降毒作用, 也无拮抗作用。在不同基质中菌株联合降毒效果未见有显著差异, 表明两者对产 T-2 毒素菌株及其培养基并无选择性, 以上结果同时表明, 两菌株降毒是直接作用于产物 T-2 毒素, 而非通过抑制镰孢菌产毒达到毒素含量降低的效果。

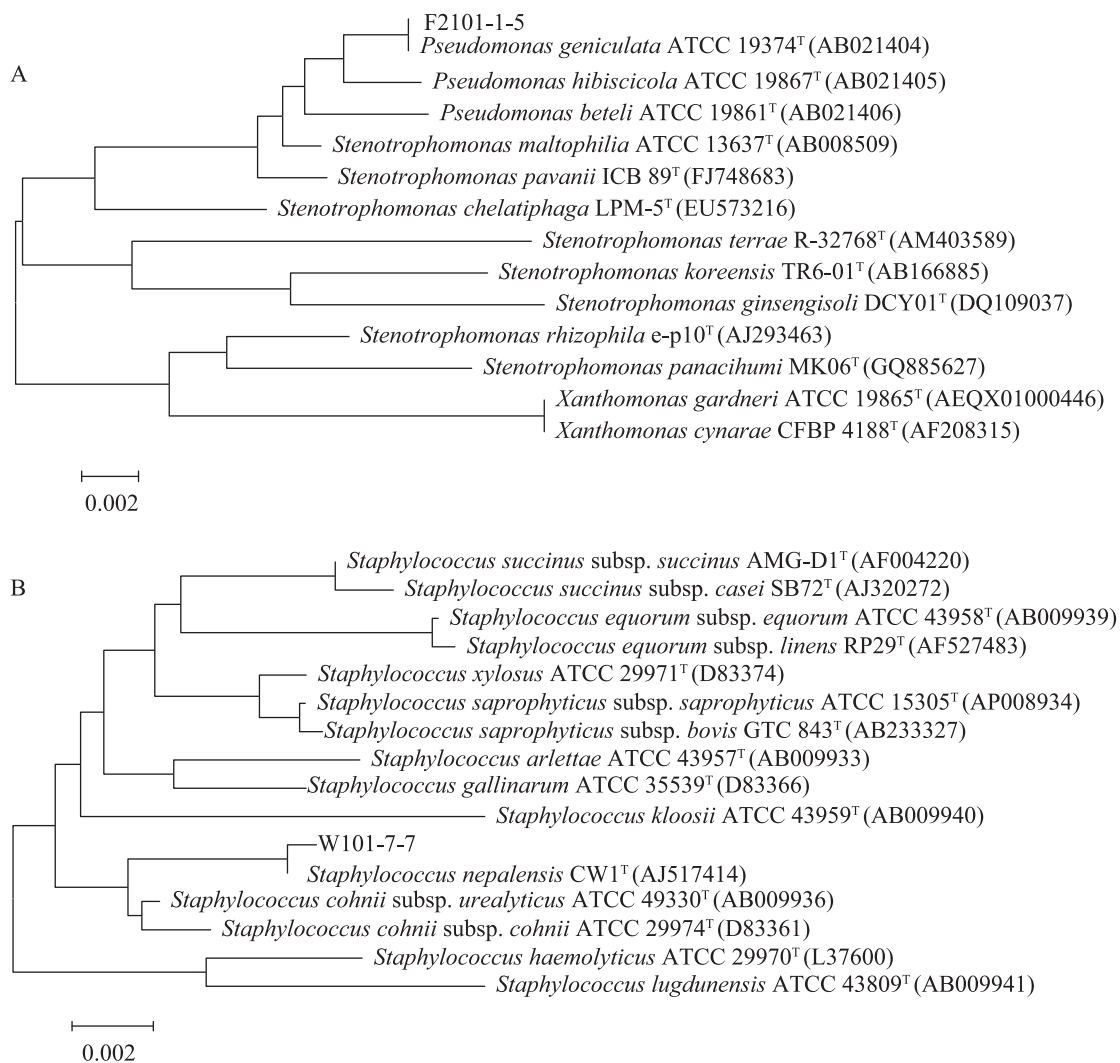


图 2 基于 16S rRNA 序列的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on the 16S rRNA sequence of isolate strains

Note: A: F2101-1-5; B: W101-7-7.

真菌毒素的生物降解近年来广泛受到人们的关注。现已报道的生物真菌毒素降解机理主要有酶降解、生物细胞壁吸附和酵母发酵^[17-18]。单端孢霉烯族毒素的生物降解机理研究主要为将其转化为低毒或无毒产物的酶类^[19-20]，经过羟基化作用、羰基化作用、脱环氧化、水解脱乙酰基、水合作用及苷化共轭等作用^[20]使其毒性降低甚至消除。有报道指出，与本研究发现的弯曲假单胞菌同为假单胞菌属的 *Pseudomonas* sp. ZEA-1，

降解真菌毒素玉米烯酮的机理是该细菌利用了 ZEA 为碳源，降解反应是 *Pseudomonas* sp. ZEA-1 产生的酶的作用，并指出编码这种酶的基因存在于质粒上^[21]。本研究发现两株降解 T-2 毒素的菌株，均可产生多种酶类，其中包括可能将 T-2 毒素脱乙酰化的脂酶；T-2 毒素的细胞毒性大，降解菌株为致病菌，进一步说明该菌的抗性较强；培养液中 T-2 毒素的减少，可能是通过细胞膜的选择吸收，也可能是通过选择性酶的降解，

表 3 分离菌株对 T-2 毒素降解率
Table 3 The degradation effect of T-2 toxin by isolated strains

| 菌种编号 Bacteria marks | 初始浓度 Initial concentration (μg/L) | 终浓度(平均值±标准差) Final concentration (μg/L) (x±s) | 降解率 Degradation ratio (%) |
|----------------------------|--------------------------------------|--|------------------------------|
| Control | 5 | 4.4480±0.0255 | 13.3 |
| F2101-1-5 | 5 | 0.4285±0.0015 | 90.9 |
| W101-7-7 | 5 | 0.8270±0.0125 | 85.5 |
| F2101-1-5 & W101-7-7 | 3.731 ^a | — | 100.0 |
| | 2.269 ^b | 0.6550±0.0204 | 71.1 |
| | 1.520 ^c | — | 100.0 |
| | 3.383 ^d | 0.5860±0.0306 | 82.7 |

注: —: 未检出; ^a: Fs1102-1 产毒培养液; ^b: Fw1101-7 产毒培养液; ^c: Fs101-3 产毒培养液; ^d: Ff2101-1 产毒培养液。

Note: —: Non-detected; ^a: Fs1102-1 culture medium; ^b: Fw1101-7 culture medium; ^c: Fs101-3 culture medium; ^d: Ff2101-1 culture medium.

但究竟反应为哪种机制,起作用的是哪种酶,需进一步研究。本研究为进一步找到 T-2 毒素的生物降解酶奠定了基础,继续通过分子生物学技术和基因工程技术探明该降解菌降毒基因,后将其在微生物中克隆和表达,将成为养殖环境与饲料中降解 T-2 毒素的新资源,具有良好的研究开发与应用前景。

参考文献

- [1] Sokolović M, Garaj-Vrhovac V, Simpraga B. T-2 toxin: incidence and toxicity in poultry[J]. Arhiv za Higijenu rada i Toksikologiju, 2008, 59(1): 43–52.
- [2] 卞伯仲, 孟庆显, 俞开康. 虾类的疾病与防治[M]. 北京: 海洋出版社, 1987: 220.
- [3] 石川介雄. 养殖ウルマエビのカビ感染に因み腮の黒変について[J]. 鱼病研究, 1968, 3(1): 34–38.
- [4] 王雅玲. 养殖环境真菌气溶胶及相关真菌毒素的检测[D]. 泰安: 山东农业大学博士学位论文, 2006.
- [5] Supamattaya K, Bundit O, Boonyarapatlin 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.
- [6] Encarnaçao P. Mycotoxins: an overlooked threat in shrimp[J]. Feed Mix, 2008, 16(3).
- [7] Purchase IFH(Ed). Mycotoxins[M]. New York: Amsterdam-Oxford New York, 1974: 229–262.
- [8] Manning BB. Mycotoxins in fish feeds[A]// Nutrition and Fish Health[M]. Lim C, Webster C.D. eds. New York: Food Products Press, 2001: 365.
- [9] Kabak B, Dobson AD, Var I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006, 46(8): 593–619.
- [10] Mirocha CJ, Abbas HK, Treeful L, et al. T-2 toxin and diacetoxyscirpenol metabolism by *Baccharis* spp.[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(9): 2277–2280.
- [11] Corley RA, Swanson SP, Gullo GJ, et al. Disposition of T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin, in intravascularly dosed swine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1986, 34(5): 868–875.
- [12] Young JC, Zhou T, Yu H, et al. Degradation of trichothecene mycotoxins by chicken intestinal microbes[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(1): 136–143.
- [13] 代喆, 王雅玲, 孙力军, 等. 利用 Fusarium poae 制备 T-2毒素的培养条件和提取方法[J]. 微生物

- 学杂志, 2011, 31(5): 40-44.
- [14] 孙力军, 陆兆新, 刘俊, 等. 一株产胞外多糖植物内生菌 EJS-3菌株的分离和鉴定[J]. 食品科学, 2006, 27(7): 65-68.
- [15] GB/T 4789.2-2008. 食品微生物学检验菌落总数测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [16] GB/T 4789.2-2010. 食品微生物学检验霉菌和酵母计数[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [17] 韩鹏飞, 贺稚非, 李洪军, 等. 微生物细胞壁结构及结合真菌毒素的研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(11): 294-298.
- [18] 孙建和, 陆苹, 顾红香. 真菌毒素的微生物脱毒技术[J]. 微生物学通报, 2003, 30(1): 60-63.
- [19] He JW, Zhou T, 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.
- [20] 邹忠义, 贺稚非, 李洪军, 等. 单端孢霉烯族毒素转化降解研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 443-448.
- [21] Altalhi AD, El-Deeb B. Localization of zearalenone detoxification gene(s) in pZEA-1 plasmid of *Pseudomonas putida* sp. strain ZEA-1 and expressed in *Escherichia coli*[J]. Malaysian Journal of Microbiology, 2007, 3(2): 29-36.

稿件书写规范

高校教改纵横栏目简介及撰稿要求

“高校教改纵横”栏目, 是中国微生物学会主办的科技期刊中唯一的教类栏目, 也是中国自然科学核心期刊中为数不多的教类栏目。该栏目专为微生物学及其相关学科领域高校教师开辟, 一方面为高校微生物学学科的教师提供一个发表论文的平台, 同时微生物关联学科的一部分确实优秀的论文也可以在此发表, 是微生物学及相关领域教学研究、交流、提高的园地。

本栏目的文章有别于其他实验类研究报告, 特色非常鲜明。要求作者来自教学第一线, 撰写的稿件内容必须要有新意、要实用, 不是泛泛地叙述教学设计与过程, 而是确实有感而发, 是教学工作中的创新体会, 或者在教学中碰到的值得商榷的、可以与同行讨论的有价值的论题。在内容选材上应该有鲜明的特点和针对性, 做到主题明确、重点突出、层次分明、语言流畅。教师的教学思路应与时俱进, 注意将国内外新的科技成果和教学理念贯穿到教学之中, 只有这样才能真正起到教与学的互动, 促进高校生物学教学的发展, 更多更好地培养出国家需要的高科技创新人才。这也是本栏目的目的所在。

同时, 为了给全国生物学领域的教学工作者提供一个更广阔更高层次的交流平台, 本栏目还开辟了“名课讲堂”版块, 邀约相关生命科学领域, 如微生物学、分子生物学、生物医学、传染病学、环境科学等的教学名师、知名科学家就教学和学生培养发表观点, 推荐在教学改革、教学研究、引进先进教学手段或模式以及学生能力培养等方面有突出成绩的优秀论文, 为高校教师以及硕士、博士研究生导师提供一个可资交流和学习的平台, 促进高校教学和人才培养水平的提高。

欢迎投稿! 欢迎对本栏目多提宝贵意见!