

产生色素的性状。在鉴定工作中须要与通常的 PDA 培养基配合使用。

3.3 由于禾谷镰刀菌的孢子是一种气生结构,用液体培养方法有可能会影响产孢效果,这就对孢子产生的定量研究造成极大困难。我们在试验中采用了一种简便地一定面积($2 \times 2\text{cm}$ 盖玻片)内孢子的计数方法,可满足一般工作需要。

3.4 草汁琼脂培养基近似于天然基质,其营养成分比较贫乏,这种条件可能也是促进禾谷镰刀菌大量产孢的原因。

3.5 草汁琼脂培养基由于缺乏营养,菌丝生长稀疏,孢子的着生状态及其他结构明显可见。这种优点在其他某些霉菌(如引起甘蔗中毒的节菱孢菌)的分类鉴定中也可发挥作用。

参考文献

1. 陈其英译·镰刀菌属·第一版·北京:农业出版社,1988年:13—17。
2. T. A. Toussoun and P. E. Nelson · *Fusarium: A pictorial Guide to the identification of Fusarium Species according to the taxonomic system of Snyder and Hansen* · second Edition · the Pennsylvania state university press university park and London, 1976: 9—10.
3. 江苏省粮食学校·禾谷镰刀菌的产孢培养·卫生研究 1975年:4(6):510—515。
4. 中华人民共和国国家标准·食品卫生检验方法微生物学部分·第一版·北京:中国标准出版社,1986年:155。
5. 孟昭赫译·真菌毒素图解·第一版·北京:人民卫生出版社,1983年:5。
6. 中国科学院微生物所·常见与常用真菌·第一版·北京:科学出版社,1978年:233。

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Don)毒性研究进展

卫生部食品卫生监督检验所 李东华综述 罗雪云校

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Don)是赤霉病麦中最常检出的毒素之一,在美国、加拿大、日本和我国等生产的玉米、麦类中 Don 检出率可达 20%~100%,造成了 Don 对人畜健康的威胁。因此,国内外学者对 Don 的毒性做了较多研究,本文综述了近年来 Don 的毒性研究进展。

1. 分子结构与毒性的关系

Don 的化学名称为 3x, 7x, 15-羟-12, 13-环氧单端孢霉-9-烯-8 酮,属于单端孢霉烯族毒素, B 型类。这类毒素的分子结构与毒性关系密切。毒素分子上 13 位的环氧结构, 9-烯键及一些位置的醋酸酯化及羟基结构与其很高的毒性有关,经碱处理,羟基被取代形成的皂化产物及 9 烯键的被氢化产物,毒性均降低,当 12、13 位环氧的环断开则

毒性丧失^[1]。Don 同系物的比较毒性研究还表明, Don 分子上 c-4 位及 c-3 所带的基团亦可影响毒素的毒性。当 Don 的 c-4 位氢分别被羟基和乙酰基取代形成雪腐镰刀菌烯醇(Niv)及镰刀菌酮-x(Fx)时,对淋巴细胞 50%体外转化抑制浓度由 140ng/ml 分别降至 72ng/ml 及 18mg/ml^[2],出现了毒性的升高。而 c-3 位或 c-15 位的羟基被乙酰基取代后,形成的 3-乙酰 Don(3ADon)或 15-乙酰 Don(15-ADon),对淋巴细胞的细胞毒性分别较 Don 降低 5 倍和 2 倍。Don 和 15-ADon 给小鼠腹腔注射时, LD50 分别为 70 和 163mg/kg 体重,经口时,则分别为 78 和 34mg/kg 体重,这表明不同分子结构的毒素毒性大小,还与毒素的给药途径有关^[3]。

2. 代谢特征

Don 在机体内能被迅速吸收并分布于靶器官,通过静脉给予猪 DON 后,5.8min 血中浓度即达第一个高峰,96min 后达第二个高峰,而口服 Don,15~30min 血浓度达高峰^[9],并主要分布于胃肠道及肝、肾、脑和睾丸中。Don 在猪体内的半衰期为 2.08~3.15h,经肝微粒体酶代谢,形成乙酰葡萄糖苷或-5 硫酸盐结合,或转化或二环氧代谢物(Don-1)的形式和原形排出体外,Don 的游

离及结合转化物主要经肾重吸收由尿排出,部分经肝胆循环由粪排出。哺乳的牛羊及生蛋的鸡饲喂 Don 后,乳中和蛋中有微量的 Don 存在,这可能是 Don 的另一种排泄方式^{[5][6]}。

3. 急性毒性

在单端孢霉烯族毒素中,Don 的毒性中等。Don 对动物的急性 LD₅₀及最低致吐量见表 1。

表 1 Don 的急性毒性

投	小鼠()		大鼠	狗		鸭雏	猪		鸽子
	经口	腹腔	经口	皮下	静脉	皮下	腹腔	经口	经口
LD ₅₀ (mg/kg)	78	49	7.3	23.8		27.0			
最低致吐量(mg/kg)					0.1		0.05	0.075	10.0

人误食含 Don 的赤霉病麦后,短时间内可发生恶心、呕吐、头晕、腹痛腹泻。猪等哺乳类动物,给予 Don,最早出现的症状为呕吐,呕吐的初发时间及严重程度直接受毒素量大小的影响。Don 的致吐可能由于对延髓化学感受器触发区的直接刺激作用而致。

为了对 Don 的急性毒性做深入研究,Forsell 等^{[2][3]}一次给予小鼠 100ppm 致死量的 Don,病理检查发现,Don 对消化道产生直接破坏作用,包括小肠、大肠上皮组织的严重坏死,消化道内腺腔扩张,腺体细胞增生、核增大,染色体过深、绒毛变短并发生融合。Don 还造成骨髓造血细胞坏死及大量细胞增生。具特别意义的是毒素对淋巴组织的破坏作用,使脾脏、胸腺组织重量降低,器官萎缩,出现广泛的坏死,髓质淋巴细胞减少,血中抗羊红细胞抗体、B 和 T 淋巴细胞转化率降低。根据上述毒性改变,作者认为肠道、脾脏、胸腺和骨髓损害是 Don 急性接触最敏感的标志。

动物的种系、性别、年龄及给药途径等可影响 Don 的急性毒性。受试动物中,猪对

Don 最敏感,口腹或腹腔注射 50~75mg/kg 体重的毒素,就可致吐,可能因猪对 Don 的吸收率较大之故。幼年动物较成年动物敏感;雄性动物较雌性动物敏感^{[8][9]},由于肠道菌群具有脱环氧的解毒功能,Don 经腹腔注射较经口给药毒性大;自然存在于病麦中的毒素较同量的纯毒素的毒性更大,这与自然污染中还存在别的同族毒素有关^[10]。

4. 喂养实验研究

小鼠的 5—6 周喂养实验表明,Don 可引起呈剂量反应关系的器官重量降低,免疫抑制作用及血液学改变,在 0.5mg/kg 体重的低剂量 Don 喂养时,小鼠摄食及增重降低,伴血 x₁和 x₂球蛋白降低,Don 增至 5ppm 或 1mg/kg 体重时^[12],逐渐出现肝、肾、脑的重量降低,呈剂量—反应关系,总血清白蛋白下降,脾细胞增殖能力增加,出现单核细胞增多性李氏菌反应,血中 IfA 反应性上升。当饲料中的 Don 含量达 10~25mg/kg 体重以上,小鼠的免疫系统明显受损,白细胞等明显下降,胸腺萎缩。皮质变薄,生发中心减少,胸腺细胞对分裂素的反应降低,血浆抗羊红细

胞抗体明显降低^[7],继发肺炎、脓肿、心包炎、及红细胞系统的损害,在 7.5mg/kg 体重的高剂量 Don 时,小鼠可出现原发或继发性淋巴组织受损、胸腺、脾组织及肠系膜淋巴组织萎缩、坏死、纤维化。同时小鼠表现神经和系统的受损、颤抖、运动困难、爬行蹒跚等。

5. 细胞毒性与三致作用

DON 具有明显的细胞毒性,淋巴细胞尤

其敏感。DON 对各种细胞的抑制作用见表 2。DON 的细胞毒性可能由于其抑制了肽基转移酶活性中心,阻止了核糖体循环的起动和终止反应,干扰了 DNA 连接酶活性而抑制了蛋白质和 DNA 的合成;并因抑制了脂肪合成和磷脂摄取而可能损害细胞膜功能^[1]。

表 2 DON 的细胞毒性

	人		大 鼠		小鼠
	淋巴细胞	XP 成纤维细胞	脾细胞	淋巴细胞	BALB/313 细胞
50%抑制浓度(ng/ml)	140~160	252	131		
最低抑制浓度(ng/ml)				10	100

DON 的三致作用,各研究的报道不一。流行病学调查发现,食管癌高发区玉米中 DON 的检出率是低发区的 10 倍。高发区玉米中 DON 提取物及经 HPLC 纯化的 DON 均可引起 V₇₉ 细胞染色体畸变并呈剂量反应关系^[13]。王加生等用含 DON 的赤霉病麦粗提毒素作 Ames' 实验,加与不加 S₉,均对 TA100 等 5 种测试菌株有诱变性^[14],DON 的粗毒素研究结果提示 DON 可能具有致突变作用。

sheu 采用 BALB/3T3 细胞做体外转化实验,0.2~1.6mg/ml 的 DON 纯品可使某些代的细胞产生形态转化作用,提示 DON 有潜在的致作用^[5]。王加生等的 Ames' 实验,5mg/皿 DON,加或不加 S₉,均未出现诱变作用^[13];1~1000mg/ml 的 DON 未使大鼠原代肝细胞的程序外 DNA 合成增加^[16];中国仓鼠 V₇₉ 细胞在加或不加肝细胞时,0~3mg/ml DON 无致突变作用^[17];体内小鼠精子 DON 致畸实验,亦为阴性。上述 DON 三致实验结果有异,可能因 DON 纯品中尚有其他单端孢霉毒素素并存或所选实验方法敏感性之故。因此有关 DON 的致突作用,仍

需选用其他指标,进行观察研究。

DON 的胚胎毒性已有较多报道,孕前或孕期给予 DON,均可降低动物的受孕率,使胚胎死亡率增高,胎仔重量减少^{[18][19]}。

Khera 在小鼠的致畸实验中发现,随 DON 的剂量增加,母鼠出现体重下降、腹泻、阴道出血、胚胎 80~100% 吸收。1.0、2.5、5mg/kg 体重的 DON 引起显著的胚胎骨骼畸形并呈剂量反应关系^[20]。继后, Khera 用 2mg/kg 体重的 DON 喂养了周龄小鼠至 8 周龄,与对照组比较,表现母体和胚胎毒性,但仔鼠未见显著的大体和病理改变。因此 DON 的致畸性可能有一定的浓度才能发生。

6. 其他作用

阉割的小猪,给予含 10.5ppm 的 DON 的饲料喂养 3 周,毒素组红细胞压积减少,血色素、血清葡萄糖、磷、血钙降低^[21]。DON 还抑制由 ADP 或胶原激活的血小板凝聚作用。

DON 可能通过与酯酶作用而对肝总酯及甘油磷酸酯的水平有影响^[22]。DON 对脑中胺类代谢亦有影响^[23],其意义尚待阐明。

Pestka 等给 B6C3F1 小鼠 2、10、25、50ppm 的 DON, 血清 IgA 随时间显著升高, 25 周对增高 17 倍, IgG、IgM 则降低。体外培养中脾细胞受刺激所产生的 IgA 也显著增加, 免疫荧光染色还显示, DON 处理组的肾小球 IgA 显著积聚, 肾小球电子密度增高。IgA 的失控产生及 IgA 在肾小球的积聚, 类似于一种常见的人 IgA 性肾病。这个结果说明 DON 对免疫系统具有型的特异性影响, 并对肾脏可能有特殊的作用。

DON 与其他毒素的联合作用, DON 可能起协同作用而非相加作用^[14], 由于赤霉病麦中常检出多种毒素共存, 因此有必要研究 DON 与其他毒素的联合作用模式。

参 考 文 献

1. Ueno, Y. Mode of action of trichothecenes. *Pure & Chem* 1977; 49: 1937.
2. Forsell JH, et al. Relation of 8-ketotrichene and zearalenone analog structure to inhibition of mitogen-induced lymphocyte blastogenesis. *Appl Envir Microbiol* 1985; 50: 1304.
3. Forsell JH, et al. Comparison of acute toxicities of deoxynivalenol (Vomitoxin) and 15-acetyldeoxynivalenol in the B6C3F1 mouse. *Fd Chem Toxic* 1987; 20: 155.
4. Prelusky DB, et al. Pharmacokinetic fate of 14C-deoxynivalenol on swine. *Fundam Appl Toxicol* 1988; 10(2): 276.
5. Prelusky DB, et al. Nontransmission of deoxynivalenol to milk following oral administration to dairy cows. *J Envir Sci Health* 1984; 19(7): 593.
6. Prelusky DB, et al. Transmission of residues to eggs following longterm administration of 14C-labelled deoxynivalenol to laying hens. *Poult Sci* 1988; 68(4): 744.
7. Robbans BS, et al. Immunosuppression of deoxynivalenol. *Toxicology* 1988; 48(2): 438.
8. Cote LM, et al. Toxicity and metabolism of deoxynivalenol: A. Study in swine, cattle and rats. *Diss Abstra Int* 1987; B47(7): 2791B.
9. Cote LM, et al. Sex-related reduced weight gains in growing swine feed diets containing deoxynivalenol. *J Anim Sci* 1985; 6(4): 942.
10. Forsyth DM, et al. Emetic and refusal activity of deoxynivalenol to swine. *Appl Envir Microbiol* 1977; 34: 547.
11. Traphons H, et al. Effects of deoxynivalenol (Vomitoxin) on the humoral and cellular of mice. *Toxicol Lett* 1986; 30(2): 137.
12. Forsell JH, et al. Effects of 8-week exposure of the B6C3F1 mouse to dietary deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone. *Fd Chem Toxic* 1986; 24(3): 213.
13. Marasas WFO, et al. Incidence of fusarium species and the mycotoxins, deoxynivalenol and zearalenone in corn produced in esophageal cancer areas. *J Agric Food Chem* 1979; 27: 1108.
14. 王家生, 等. 赤霉病麦中毒研究 IV. 赤霉病麦粗毒素的致病与致突变研究. *真菌学报* 1986; 5(1): 52.
15. Sheu CW, et al. Morphological transformation of BALB/3T3 mouse embryo cells in vitro by vomitoxin. *Fd Chem Toxic* 1988; 26: 243.
16. Bradlaw JA, et al. Evaluation of purified 4-deoxynivalenol (vomitoxin) for unscheduled DNA synthesis in the primary rat hepatocyte-DNA repair assay. *Fd Chem Toxic* 1985; 23: 1063.
17. Rogers CG, et al. Cytotoxicity and absence of mutagenic activity of vomitoxin (4-deoxynivalenol) in a hepatocyte-mediated mutation assay with V79 Chinese hamster lung cells. *Cancer Lett* 1983; 20: 29.
18. Richard EM, et al. Effect of deoxynivalenol (vomitoxin) on fertility pregnancy, and postnatal development of sprague-dawley rats. *Appl Envir Microbiol* 1985; 49: 1062.
19. Maran ET, et al. Impact of high dietary vomitoxin on yolk yield and embryonic mortality. *Poult Sci* 1987; 66(6): 977.
20. Khera KS, et al. Embryotoxicity of 4-deoxynivalenol (vomitoxin) in mice. *Bull Environ Contam Toxicol* 1982; 29: 487.
21. Lun AK, et al. The effects of vomitoxin and feed intake on the performance and blood characteristics of young pigs. *J Anim Sci* 1985; 61(5): 1063.
22. Farnsworth ER, et al. Liver lipid levels in white leghorn hens fed diets that contained deoxynivalenol (vomitoxin). *Poult Sci* 1983; 62: 832.
23. Fitzpatrick DW, et al. Comparison of the trichothecenes DON and T-2 toxin, for their effect brain bio-