

## 饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾生长、肝胰腺和血淋巴生化指标及肝胰腺显微结构的影响

王 静, 郭 冉\*, 苏 利, 夏 辉, 崔 敏

(河北农业大学海洋学院, 河北 秦皇岛 066003)

**摘要:** 实验设置黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 为 0、400、800、1 200、1 600、2 000 μg/kg 6 组饲料, 饲养初始体质量为 (0.3 ± 0.02) g 的凡纳滨对虾, 经过 8 周的生长实验观察饲料中 AFB<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾生长、体营养成分组成、肝胰腺显微结构以及血淋巴和肝胰腺生化指标的影响。实验结果表明: 随着饲料中 AFB<sub>1</sub> 的增加, 各组全虾粗蛋白量无显著性差异, 1 600 μg/kg 组和 2 000 μg/kg 组的全虾粗脂肪量高于其他组。AFB<sub>1</sub> 为 1 200 μg/kg 时对虾增重率最低 (304.67%), 2 000 μg/kg 时增重率显著高于其他组, 但成活率最低 (58.33%)。随着饲料中 AFB<sub>1</sub> 的升高酶活性普遍呈下降趋势。2 000 μg/kg 组肝胰腺中总抗氧化能力 (T-AOC) 显著下降 ( $P < 0.05$ ), 1 600 μg/kg 组肝胰腺中谷胱甘肽 S 转移酶 (GST)、超微量 ATP 酶和超氧化物歧化酶 (SOD) 酶活力最低, 但血淋巴中 GST 显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ )。从凡纳滨对虾肝胰腺的组织切片可观察到, 饲料中含有的 AFB<sub>1</sub> 越高, 肝胰腺被破坏程度越高。随着饲料中 AFB<sub>1</sub> 含量增加, 对虾肝胰腺中 AFB<sub>1</sub> 残留量逐渐增加, 2 000 μg/kg 组对虾肝胰腺中 AFB<sub>1</sub> 含量最高 (95.49 μg/kg), 各实验组肌肉中无 AFB<sub>1</sub> 残留。

**关键词:** 凡纳滨对虾; 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>; 生化指标; 肝胰腺显微结构

中图分类号: S 917; S 963.14

文献标志码: A

淀粉和脂肪类物质(棉籽、玉米、小麦和大豆)是水产饲料所必需的营养物质, 而这些原料在生产、储存、运输过程中易产生黄曲霉毒素。黄曲霉毒素为分子真菌毒素, 是一种剧毒物和强致癌物质, 为迄今发现的各种真菌毒素中最稳定的一种。黄曲霉毒素是由黄曲霉、寄生曲霉等在生长过程中产生的次级代谢产物, 是由 tk-ur 组成的一种化合物, 按其化学结构可分为 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 和 G<sub>2</sub> 4 种。黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 是最普遍的, 主要对人类、动物和水生生物有强致癌、致突变和致畸作用<sup>[1]</sup>。目前的研究表明, 鱼类中对黄曲霉毒素最敏感的是虹鳟, 其次是灰鲱鲤、鲤、红罗非鱼和尼罗罗非鱼<sup>[2-3]</sup>。

在热带和亚热带地区, 养殖鱼类饲料中已经

普遍检出黄曲霉毒素的污染, 并将罗非鱼作为一种常用研究鱼类, 用以探讨其生理特性以及黄曲霉毒素的毒性作用。然而, 黄曲霉毒素的毒性作用机制仍然知之甚少, 并且在不同的研究中存在一些矛盾的结果。如 El-Banna 等<sup>[4]</sup>研究得出罗非鱼饲喂含 0.1 mg AFB<sub>1</sub>/kg 的日粮 10 周会导致生长率显著下降, 饲喂含 0.2 mg AFB<sub>1</sub>/kg 的日粮会导致 16.7% 死亡率。Cagauan 等<sup>[5]</sup>则表示饲喂 5.00 ~ 38.62 μg AFB<sub>1</sub>/kg 饲料 90 d, 罗非鱼的成活率比对照组低 67%。然而, Tuan 等<sup>[6]</sup>研究表明饲喂罗非鱼含有 250 μg AFB<sub>1</sub>/kg 的日粮并不会对其有不利影响, 只有当到达 2.5 mg AFB<sub>1</sub>/kg 时才可能会使罗非鱼的肝胰脏发生病变且阻碍生长。Deng 等<sup>[7]</sup>研究结果显示罗非鱼在饲喂 245 μg AFB<sub>1</sub>/kg 的日粮后

收稿日期: 2011-11-23 修回日期: 2011-12-24  
资助项目: 河北农业大学博士基金 (B201003)  
通讯作者: 郭 冉, E-mail: toguoran@163.com

开始出现病变, AFB<sub>1</sub>含量达到 1 641 μg/kg 时罗非鱼生长性能和生化指标均与较低 AFB<sub>1</sub>组存在差异。中国对虾和沼虾 24 h 内对 AFB<sub>1</sub>的半致死浓度分别为 14.0 和 1.0 mg/L, 对虾、虹鳟、鲈、罗非鱼和海水鲈对 AFB<sub>1</sub>的半数致死量分别为 100.5、0.5~1.0、11.5、1.0~1.3 和 0.18 mg/kg, 由以上数据可看出甲壳动物, 尤其是虾对于 AFB<sub>1</sub>的敏感性显著低于鱼类, 本实验由此拟出 AFB<sub>1</sub>的实验含量为 400~2 000 μg/kg, 以 0 μg/kg AFB<sub>1</sub>的饲料为对照组。

目前关于黄曲霉毒素的研究多集中在哺乳动物上, 对于水产动物的研究甚少。关于水产动物的研究, 对象也多为鱼类。本研究拟在已有 AFB<sub>1</sub>对水产动物影响研究的基础上, 观察 AFB<sub>1</sub>对凡纳滨对虾生长、体营养成分、免疫指标、器官组织的影响及其在虾体内的残留情况, 为以后的饲料生产及存储提供科学有效的数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验虾的来源及驯养

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)由天津大神堂水产育苗养殖有限公司提供, 用随机抽样的方法挑选健壮无病, 平均体长 1.5 cm, 体质量为

(0.3 ± 0.02) g 的虾苗。正式实验开始前将凡纳滨对虾暂养在水族箱中, 以对照组饲料饱食投喂, 驯养 1 周后开始分组实验。

### 1.2 实验方法和饲养管理

实验试剂 AFB<sub>1</sub>标准品购自 Sigma 公司。实验饲料配方和成分分析如表 1 所示。饲料按表 1 配方作为基础配方, AFB<sub>1</sub>含量分别为 0、400、800、1 200、1 600、2 000 μg/kg, 制成直径 1.5 mm 的颗粒, 置于 60 °C 烘箱中, 熟化 4 h 后放 -20 °C 冰箱保存备用。饲养实验在室内实验室进行, 玻璃水箱的规格为 40 cm × 50 cm × 60 cm, 实验用水为过滤净化后的天然海水, 盐度 30。6 种饲料, 每种饲料设置 3 个平行箱共 18 个箱, 每箱放虾 30 尾。按照体质量的 6%~7% 投喂饲料, 计算每次投喂的饲料重量。每天分别在 7:00、12:00、17:00 各投喂一次, 整个实验期间采用封闭式养殖。每天下午用虹吸法清除粪便并换水 1/3, 定时巡查, 及时拣出死虾, 对完整的虾量体长, 称体质量。每天记录水温, 每两周分别测定海水的溶氧、pH、氨态氮。水温平均为(28.5 ± 1.0) °C, 水中溶氧量为(10.79 ± 0.4) mg/L, pH 8.0~8.5, 氨氮含量为(0.5 ± 0.1) mg/L。

表 1 实验饲料配方及营养组成  
Tab. 1 Formulation and composition of experimental diets %

| 原料 raw materials | 含量 content | 饲料成分组成 proximate analysis | 含量 content |
|------------------|------------|---------------------------|------------|
| 酪蛋 casein        | 37.0       | 水分 moisture               | 9.70       |
| 明胶 gelatin       | 9.2        | 粗蛋白 crude protein         | 43.77      |
| 纤维素 cellulose    | 20.7       | 粗脂肪 crude lipid           | 6.33       |
| 其它 others        | 33.1       | 总糖 total carbohydrate     | 7.38       |
|                  |            | 粗灰分 crude ash             | 8.50       |

注: 其它成分中包括玉米淀粉 20%, 鱼油 3.5%, 玉米油 3.5%, 大豆磷脂 0.5%, 复合矿物盐 0.5%, 复合维生素 2.0%, 氯化胆碱(50%) 0.5%, Vc 磷酸酯 0.5%, 甜菜碱 0.1%, CMC 2.0%。

Notes: Others include corn starch 20%, fish oil 3.5%, corn oil 3.5%, soybean lecithin 0.5%, mineral mixture 0.5%, vitamin mixture 2.0%, choline(50%) 0.5%, ascorbic phosphate ester 0.5%, betaine 0.1%, CMC 2.0%.

### 1.3 样品采集及分析

实验饲料和虾体样品的水分、蛋白、粗灰分及粗脂肪的含量采用 AOAC 的方法进行分析<sup>[8]</sup>。实验结束时, 使虾空腹 24 h 后, 从每箱中随机取虾 5 尾, 用纱布吸干水分后, 在 105 °C 烘至恒重制备全虾样品。另随机取虾 4 尾, 分别取血清、肌肉和肝胰腺样品。采用 105 °C 常压干燥法、凯氏定氮法<sup>[9]</sup>及甲醇-氯仿抽提法分别测定全虾的水分、粗蛋白和粗脂

肪。每箱取一尾虾的完整的肝胰腺(外有包膜), 放入固定液中固定, 以备切片 H.E 染色<sup>[10]</sup>。虾体中 AFB<sub>1</sub>含量用酶联免疫吸附法(ELISA)测定, 采用上海佑隆生物科技有限公司试剂盒。

### 1.4 实验结果的统计分析

实验结果采用平均数 ± 标准误(mean ± SE)表示, 经单因子方差分析后采用 Duncan 氏多重比较法进行差异显著性检验, 差异显著性水平为  $P < 0.05$ ,

数据统计使用 SPSS 13.0 分析软件。

## 2 结果

### 2.1 AFB<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾生长和机体营养成分组成的影响

实验开始第 3 周, 第 4 至 6 组的对虾开始出现死亡。8 周后, 凡纳滨对虾实验组的成活率和增重

率与对照组比较均存在显著性差异( $P<0.05$ )(表 2)。第 6 组的增重率最高, 但成活率显著低于其他组( $P<0.05$ )。

随着饲料中 AFB<sub>1</sub> 的增加, 各组全虾粗蛋白含量没有显著性差异, 第 5 组和第 6 组的全虾粗脂肪含量显著高于其他各组( $P<0.05$ )。第 4 至 6 组肝体比较其他实验组低。

表 2 AFB<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾生长及机体营养成分组成的影响

| 组别<br>group | AFB <sub>1</sub> /μg<br>aflatoxin B <sub>1</sub> | 成活率<br>survival rate      | 增重率<br>weight gain           | 粗脂肪<br>crude lipid       | 粗蛋白<br>crude protein | 肝体比<br>hepatopancrease ratio |
|-------------|--|---------------------------|------------------------------|--------------------------|----------------------|------------------------------|
| 1           | 0  | 75.00 ± 0.96 <sup>b</sup> | 450.62 ± 4.78 <sup>cd</sup>  | 4.39 ± 0.37 <sup>a</sup> | 96.98 ± 1.11         | 4.37 ± 0.04 <sup>a</sup>     |
| 2           | 400  | 70.83 ± 3.37 <sup>b</sup> | 393.68 ± 18.16 <sup>bc</sup> | 4.19 ± 0.29 <sup>a</sup> | 97.61 ± 0.76         | 5.22 ± 0.05 <sup>c</sup>     |
| 3           | 800  | 75.99 ± 1.53 <sup>b</sup> | 334.07 ± 9.06 <sup>ab</sup>  | 4.32 ± 0.05 <sup>a</sup> | 95.02 ± 0.79         | 5.00 ± 0.33 <sup>bc</sup>    |
| 4           | 1200   | 70.27 ± 3.70 <sup>b</sup> | 304.67 ± 1.27 <sup>a</sup>   | 4.61 ± 0.11 <sup>a</sup> | 97.27 ± 0.55         | 4.69 ± 0.05 <sup>ab</sup>    |
| 5           | 1600   | 75.00 ± 0.96 <sup>b</sup> | 350.07 ± 8.75 <sup>ab</sup>  | 5.77 ± 0.34 <sup>b</sup> | 95.10 ± 0.89         | 4.62 ± 0.02 <sup>ab</sup>    |
| 6           | 2000   | 58.33 ± 0.96 <sup>a</sup> | 496.02 ± 50.17 <sup>d</sup>  | 5.72 ± 0.29 <sup>b</sup> | 97.41 ± 0.39         | 4.55 ± 0.05 <sup>ab</sup>    |

注: 结果用平均数和该处理数据的标准误表示( $n=3$ ); 同列数据上标不同者表示有显著性差异( $P<0.05$ ); 增重率= $(W_1-W_0)/W_0 \times 100\%$ ; 成活率=终末虾尾数/初始虾尾数  $\times 100\%$ ; 肝体比=肝重/体重  $\times 100\%$ ;  $W_0$  为初始平均湿重,  $W_1$  为终末平均湿重。

Notes: Values are means  $\pm$  SE ( $n=3$ ); Means with different superscript in each line are significant different ( $P<0.05$ ); Weight gain= $(W_1-W_0)/W_0 \times 100\%$ ; Survival rate = final shrimp/initial shrimp  $\times 100\%$ ; Hepatosomatic index (HSI) = liver weight/ body weight  $\times 100\%$ ;  $W_0$  is initial average wet weight,  $W_1$  is final average wet weight.

表 3 AFB<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾免疫机能的影响

Tab. 3 Immune function of *L. vannamei* fed with aflatoxin B<sub>1</sub>

|                                       | 组别 group                  |                            |                            |                            |                           |                            |
|---------------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
|                                       | 1                         | 2                          | 3                          | 4                          | 5                         | 6                          |
| 肝胰腺生化指标                               |                           |                            |                            |                            |                           |                            |
| hepatopancreas biochemical indicators |                           |                            |                            |                            |                           |                            |
| 总抗氧化能力/(U/mg prot) T-AOC              | 12.25 ± 0.61 <sup>c</sup> | 7.80 ± 0.75 <sup>b</sup>   | 6.80 ± 0.29 <sup>b</sup>   | 6.91 ± 0.77 <sup>b</sup>   | 6.81 ± 0.56 <sup>b</sup>  | 4.19 ± 0.74 <sup>a</sup>   |
| 谷胱甘肽 S 转移酶/(U/mg prot) GST            | 50.41 ± 1.20 <sup>d</sup> | 47.60 ± 0.82 <sup>c</sup>  | 41.49 ± 0.76 <sup>b</sup>  | 42.38 ± 0.89 <sup>b</sup>  | 33.48 ± 0.88 <sup>a</sup> | 47.11 ± 0.32 <sup>c</sup>  |
| 超微量 ATP 酶/(U/mg prot) ATPase          | 15.99 ± 0.30 <sup>c</sup> | 12.40 ± 0.07 <sup>d</sup>  | 11.76 ± 0.08 <sup>c</sup>  | 10.24 ± 0.05 <sup>b</sup>  | 8.29 ± 0.04 <sup>a</sup>  | 12.51 ± 0.14 <sup>d</sup>  |
| 超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD               | 62.98 ± 1.06 <sup>d</sup> | 56.85 ± 1.28 <sup>c</sup>  | 56.01 ± 1.13 <sup>c</sup>  | 45.06 ± 1.17 <sup>b</sup>  | 38.38 ± 0.76 <sup>a</sup> | 41.93 ± 0.92 <sup>b</sup>  |
| 血淋巴生化指标                               |                           |                            |                            |                            |                           |                            |
| haemolymph biochemical indicators     |                           |                            |                            |                            |                           |                            |
| 谷胱甘肽 S 转移酶/(U/mL) GST                 | 16.16 ± 0.92 <sup>a</sup> | 20.69 ± 2.21 <sup>ab</sup> | 19.97 ± 0.31 <sup>ab</sup> | 20.55 ± 2.57 <sup>ab</sup> | 26.91 ± 0.85 <sup>c</sup> | 22.76 ± 0.25 <sup>bc</sup> |
| 超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD                    | 53.57 ± 0.83 <sup>d</sup> | 53.74 ± 0.57 <sup>d</sup>  | 52.53 ± 0.87 <sup>d</sup>  | 39.46 ± 0.47 <sup>c</sup>  | 22.89 ± 1.46 <sup>a</sup> | 33.02 ± 1.34 <sup>b</sup>  |

注: 结果用平均数和该处理数据的标准误表示( $n=3$ )。同行数据上标不同者表示有显著性差异( $P<0.05$ )。1U=1 个酶活力单位。

Notes: Values are means  $\pm$  SE ( $n=3$ ). Means with different superscript in each row are significant different ( $P<0.05$ ). 1U=1 enzyme activity unit.

### 2.2 AFB<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾免疫机能的影响及在虾体中的残留量

由表 3 可见, 第 2 至 5 组的谷胱甘肽 S 转移酶(GST)、超微量 ATP 酶和超氧化物歧化酶(SOD)与对照组相比均显著下降( $P<0.05$ )。第 6 组肝胰腺总抗氧化能力(T-AOC)与其他组比较呈显著下降趋势, 但其他酶活性都略有升高。随着饲料中 AFB<sub>1</sub> 的增加, 实验组与对照组血淋巴中的 GST 和 SOD 存在显著性差异( $P<0.05$ ), GST 呈上升趋势, SOD

呈下降趋势, 但第六组血淋巴酶活性略微上升。

随着饲料中 AFB<sub>1</sub> 的增加, 对虾肝胰腺中的含量也随之增加(图 1), 第 6 组肝胰腺 AFB<sub>1</sub> 含量显著高于其他各组( $P<0.05$ )。而各组对虾肌肉中并未检测出 AFB<sub>1</sub>。

### 2.3 AFB<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾组织器官病理变化的影响

AFB<sub>1</sub> 直接造成凡纳滨对虾内脏的肉眼变化, 主要表现为肝胰腺的颜色苍白、肿大, 第 5、6 组虾的肝胰腺糜烂变成稀水状, 从第 3 组开始对虾的

肝胰腺出现明显的破损。图 2 显示实验进行 8 周后凡纳滨对虾肝胰腺组织切片。与对照组相比, 实验组的肝细胞受到不同程度的损害, 可以明显看出, 第 3 组对虾肝胰腺的贮存细胞严重萎缩, 出现大片的空泡, 肝胰腺边缘的细胞尚完整, 第 5 组和第 6 组对虾肝胰腺出现细胞紧缩。

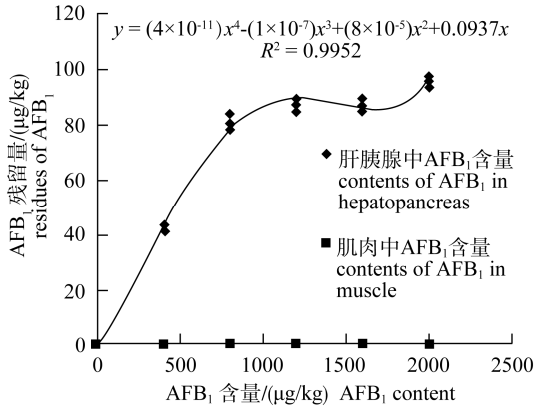


图 1 AFB<sub>1</sub> 在凡纳滨对虾肝胰腺和肌肉中的残留量  
Fig. 1 Residues in hepatopancreas and muscle of *L. vannamei* fed with aflatoxin B<sub>1</sub>

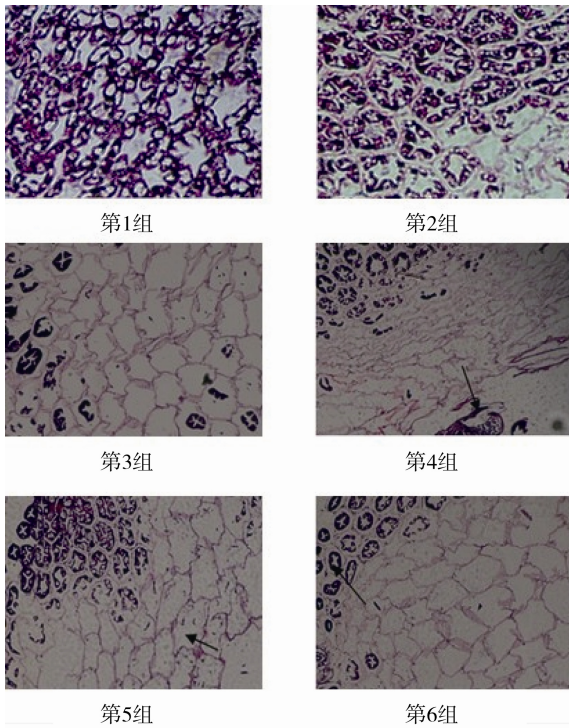


图 2 饲料中 AFB<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾肝胰腺显微结构的影响  
Fig. 2 Hepatopancreas microstructure of *L. vannamei* fed with AFB<sub>1</sub>

凡纳滨对虾肝胰腺组织切片×100。第 4 组图片箭头所指为食道, 第 5 组图片箭头所指为空泡细胞, 第 6 组图片箭头所指为萎缩肝细胞。Digestive gland of shrimp biopsies ×100. The arrow of the fourth group indicate esophagus, the fifth group arrows indicate vacuoles cells, and the sixth group arrows indicate atrophy of hepatopancreas cell.

### 3 讨论

Ostrowski-Meissner 等<sup>[11]</sup>的研究结果表明当饲料中 AFB<sub>1</sub> 为 1 500 µg/kg 时, 凡纳滨对虾成活率显著下降; 3 000 µg/kg 时, 对虾开始厌食并伴随生长减缓, 体质量降低; 15 000 µg/kg 时, 经 14 d 饲养对虾全部死亡。本次实验饲料中 AFB<sub>1</sub> 在 0~1 600 µg/kg 时, 对虾的成活率未受到明显影响, 2 000 µg/kg 时, 成活率明显降低。当饲料中 AFB<sub>1</sub> 增加时, 对虾生长减慢、增重率下降。根据 Burgos-Hernandez 等<sup>[12]</sup>的研究, AFB<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾的毒性导致了消化能力降低和肝胰腺发育异常, 可能是由于霉菌毒素改变了胰蛋白酶及其他消化酶, 如酯酶和淀粉酶的活性, 从而导致对虾对营养素的消化吸收能力降低, 造成虾的摄食量减少。虽第 6 组对虾增重率显著高于对照组, 但实验结果显示第 6 组 AFB<sub>1</sub> 在肝胰腺中含量最高且观察到死亡对虾个体幼小, 夜间死亡对虾在次日清晨被发现时只剩下头部未被其他对虾摄食, 成活的对虾个体均较大, 从而使对虾增重率较高。实验开始 4 周后, 第 4 至 6 组对虾的蜕皮次数多于其他组, 且实验期间死亡的对虾多为软壳虾。产生这种现象的原因可能是由于对虾摄食较高浓度的 AFB<sub>1</sub> 使其应激蜕皮, 抵抗力减弱从而造成死亡, 接受高 AFB<sub>1</sub> 的虾表现为抗病力下降, 使对虾生产性能下降。本实验结果显示对虾机体中粗蛋白含量并没有明显的变化, 虽粗脂肪含量有差异, 但各组之间的变化并不大且 AFB<sub>1</sub> 在肌肉中无残留, 因此 AFB<sub>1</sub> 对虾体营养成分的影响不显著。

SOD 是重要的一种抗氧化酶, 具有催化超氧离子自由基进行歧化反应的功能, 可以消除氧自由基, 减少自由基对正常细胞的损伤, 使机体免受氧化伤害。Munoz 等<sup>[13]</sup>在凡纳滨对虾体内证实了超氧阴离子的存在。T-AOC 是机体抗氧化能力的总体反映。根据 Bintvihok 等<sup>[14]</sup>的研究, 实验 10 d 后, 饲料中低于 20 µg/kg 的 AFB<sub>1</sub> 已经导致对虾肝胰腺损伤和血淋巴的生化指标改变。本研究的结果显示 AFB<sub>1</sub> 会直接影响肝胰腺的总抗氧化能力, 2 000 µg/kg 时影响力最大。AFB<sub>1</sub> 通过影响可以清除自由基和抗氧化的酶, 以及肝脏的主要解毒系统, 从而破坏对虾正常的体内代谢, 使其抗病能力减弱, 对外界细菌及病毒的防御性降低。对鱼类而言 AFB<sub>1</sub> 最直接的毒

害作用是对肝脏的致癌作用。AFB<sub>1</sub> 需要肝微粒催化 AFB<sub>1</sub>-8,9-环氧化物(AFBO)来共价修改 DNA 从而诱导 DNA 损伤, 肝脏可以通过自身含有的谷胱甘肽 S 转移酶介导与还原型谷胱甘肽共轭对 AFBO 发挥解毒作用<sup>[15]</sup>。GST 是一组与肝脏解毒功能有关的酶, 该酶主要存在于肝脏中, 由于其富含 GST, 所以当肝细胞受损后, 酶会迅速释放进入血液中。因此 AFB<sub>1</sub> 破坏肝脏后, 血清中的 GST 活性会升高。本研究结果显示对虾肝胰腺中 GST 随着 AFB<sub>1</sub> 的增加而降低, 而血淋巴中的 GST 逐渐升高, 与在斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*) 中的研究结果一致, 说明了 AFB<sub>1</sub> 也会损害对虾的肝胰腺从而破坏其解毒功能。第六组酶活性变化趋势不同于其他实验组, 酶活力会略微升高, 除肝胰腺中 T-AOC 以外其他酶均呈同样变化趋势, 但第 6 组存活下来的对虾均呈现体质好、个体大, 因此第 6 组对虾血淋巴生化指标出现变化也是合理的。

Ostrowski-Meissner 等<sup>[11]</sup>报导黄曲霉毒素相关的组织病理学反应主要在两个器官, 肝脏和胰腺, 肝胰腺的变化主要是病灶细胞变性和边缘肝小管细胞坏死, 病变均发生在接触 AFB<sub>1</sub> 的对虾上。Boonyaratpalin 等<sup>[16]</sup>研究表明给斑节对虾(*Penaeus monodon*) 饲喂 AFB<sub>1</sub> 为 100~2 500 μg/kg 的饲料 8 周后, 肝胰腺会显示出组织学改变, 先是萎缩性变化, 接着出现小管上皮细胞坏死。在饲喂高浓度 AFB<sub>1</sub> 的虾中, 常见肝胰腺小管的严重退化。本实验结果显示, 饲喂高 AFB<sub>1</sub> 的对虾肝胰腺出现空泡的数量要远多于对照组, 随着 AFB<sub>1</sub> 增加, 肝细胞坏死程度越深, 空泡数量越多。由第 4 组的肝胰腺切片可以看出, 围绕着食道周围的肝细胞坏死的数量多, 肝胰腺边缘的一些肝细胞尚为完好, 1 600 μg/kg 时, 出现肝小管破损和肝细胞紧缩现象。因此靠近食道周围的肝细胞最易受到 AFB<sub>1</sub> 的影响。由此可见 AFB<sub>1</sub> 会改变肝胰腺管道结构从而直接影响其吸收和分泌功能, 造成器官发生炎症和萎缩并失去正常机能。第 6 组对虾酶活力虽高于其他实验组, 但从切片中观察到其受损伤程度仍然较高, 因此有待采取更长的实验周期来进一步观察研究。

总之, 此研究结果表明饲料中黄曲霉毒素对于凡纳滨对虾的影响是不容忽视的, 黄曲霉毒素会通过降低虾类的生长率从而影响养殖产量, 损

害其免疫力并因此造成疾病和大范围死亡。对虾即使摄食被 AFB<sub>1</sub> 污染的饲料, AFB<sub>1</sub> 也仅在其肝胰腺累积, 没有在肌肉中累积, 因此食用虾肉是安全的。凡纳滨对虾作为人类常用的海产品之一, AFB<sub>1</sub> 对于虾类的生长和免疫反应影响应受到进一步的重视和认识。

秦皇岛市港口医院的杜若红医生为本次实验的顺利完成提供了必要的技术支持, 在此表示感谢。

#### 参考文献:

- [1] IARC. Aflatoxins, some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins[R]. Lyon: IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1994, 56: 245-395.
- [2] Bailey G S, Williams D E, Wilcox J S, *et al.* Aflatoxin B<sub>1</sub> carcinogenesis and its relation to DNA adduct formation and adduct persistence in sensitive and resistant salmonid fish[J]. *Carcinogenesis*, 1988, 9: 1919-1926.
- [3] Hussain M, Gabal M A, Wilson T, *et al.* Effect of aflatoxin-contaminated feed on morbidity and residues in walleye fish [J]. *Veterinary and Human Toxicology*, 1993, 35: 396-398.
- [4] El-Banna R, Teleb H M, Hadi M M, *et al.* Performance and tissue residue of tilapia fed dietary aflatoxin[J]. *Veterinary Medical Journal Giza*, 1992, 40:17-23.
- [5] Cagauan A G, Tayaban R H, Somga J R, *et al.* Effect of aflatoxin-contaminated feeds in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[M]/Remedios R B, Mair G C. *Proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, 2004: 172-178.
- [6] Tuan N A, Grizzle J M, Lovell R T, *et al.* Growth and hepatic lesions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B<sub>1</sub>[J]. *Aquaculture*, 2002, 212: 311-319.
- [7] Deng S X, Tian L X, Liu F J, *et al.* Toxic effects and residue of aflatoxin B<sub>1</sub> in tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) during long-term dietary exposure[J]. *Aquaculture*, 2010, 307: 233-240.
- [8] Horwitz W, Latimer G W. *Official Methods of Analysis of AOAC international* [M]/ 14th edn. Gaithersburg: AOAC International, 1984.
- [9] Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G H. A simple method of the isolation and purification of total lipid from animal tissues [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226(1): 497-509.
- [10] 汪艳丽, 蔡新华, 韩金珠. 整块组织 H.E 染色方法的改进[J]. *解剖学杂志*, 1997, 20(5): 508.

- [11] Ostrowski-Meissner H, LeaMaster B, Duerr E, *et al.* Sensitivity of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, to aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. *Aquaculture*, 1995, 131: 155–164.
- [12] Burgos-Hernandez A, Farias S I, Torres-Arreola W, *et al.* *In vitro* studies of the effects of aflatoxin B<sub>1</sub> and fumonisin B<sub>1</sub> on trypsinlike and collagenase-like activity from the hepatopancreas of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture*, 2005, 250: 399–410.
- [13] Munoz M, Rodnguez J, Vandei K, *et al.* Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2000, 191: 89–107.
- [14] Bintvihok A, Ponpornpisit A, Tangtrongpiros J, *et al.* Aflatoxin contamination in shrimp feed and effects of aflatoxin addition to feed on shrimp production [J]. *Journal of Food Protection*, 2003, 66(5): 882–885.
- [15] Gallagher E P, Eaton D. *In vitro* biotransformation of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) in channel catfish liver [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1995, 132: 82–90.
- [16] Boonyaratpalin M, Supamattaya K, *et al.* Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. *Aquaculture*, 2001, 32: 388–398.

## Toxic effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on growth performance, biochemical and hepatopancreas microstructure of *Litopenaeus vannamei*

WANG Jing, GUO Ran\*, SU Li, XIA Hui, CUI Min

(Ocean College, Agricultural University of Hebei, Qinhuangdao 066003, China)

**Abstract:** The toxic effects of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) on *Litopenaeus vannamei* were examined in terms of growth indices, body composition, hepatopancreas microstructure and biochemical indexes of haemolymph and hepatopancreas. Six isonitrogenous purified diets were fed to shrimp [initial mean weight (0.3±0.02) g] for 8 weeks in triplicate tanks connected to recirculating system. Diets contained different levels of AFB<sub>1</sub> (0, 400, 800, 1 200, 1 600, 2 000 µg/kg). Crude protein of whole shrimp had no significant differences ( $P > 0.05$ ). Body lipid tended to be higher within shrimp fed diets with higher AFB<sub>1</sub> level (1 600 and 2 000 µg/kg). The lowest weight gain (304.67%) was found in shrimp fed with 1 200 µg/kg diet. However the shrimp fed with 2 000 µg AFB<sub>1</sub>/kg got the lowest survival rate (58.33%) and the highest weight gain. Enzyme activities generally indicated a downward trend. Total antioxidant capacity of hepatopancreas decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in 2 000 µg/kg diet. The activity of GST, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and SOD in hepatopancreas reached minimum in shrimp fed with 1 600 µg/kg AFB<sub>1</sub> diet, but GST of haemolymph was significantly higher than others ( $P < 0.05$ ). Histological study on shrimp fed more AFB<sub>1</sub> exhibited histological changes. Besides, higher AFB<sub>1</sub> residues in hepatopancreas were observed in shrimp fed with higher level AFB<sub>1</sub>. The most AFB<sub>1</sub> residues in hepatopancreas were detected at 95.49 µg/kg in shrimp fed with 2 000 µg/kg. However, no AFB<sub>1</sub> residue in muscle was detected in all groups.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; aflatoxin B<sub>1</sub>; biochemical; hepatopancreas microstructure

**Corresponding author:** GUO Ran. E-mail: toguoran@163.com