

2020 年度湖南省科学技术奖提名公示材料

一、 项目名称

真菌毒素对养殖动物危害及其风险防控的研究

二、 提名意见

该项目基于真菌毒素严重危害动物与人类健康的背景下,在国家重点基础研究发展计划“日常饲料霉菌毒素在肉鸡体内的转运分布规律及吸附剂的解毒作用”与湖南农业大学引进人才项目“T-2 毒素与 HT-2 毒素引起肉鸡肝细胞损伤与细胞凋亡相关机理研究”等科研基金支持下,运用动物毒理学、细胞生物学、分子生物学及分析化学等多个学科理论知识和技术方法的交叉互补,围绕真菌毒素对动物的危害及风险防控进行研究。取得的主要成果包括:(1)建立了动物饲料、动物源性食品及肉鸡体内各组织中真菌毒素的检测方法;(2)明确 T-2 毒素与 HT-2 毒素对肉鸡的体内外毒性作用及氧化应激与细胞凋亡相关机理;(3)发现并验证可有效降低真菌毒素危害的体外吸附剂,并进一步探索了 DL-硒代蛋氨酸降低真菌毒素对肉鸡危害的作用机制。以上研究成果为进一步探究真菌毒素造成动物毒性作用的分子机制奠定基础,同时为研发新型的毒素体外吸附剂及体内保护剂提供科学参考,有助于降低真菌毒素危害,从而促进养殖业健康发展。

三、 项目简介

真菌毒素是霉菌的次级代谢产物,在自然界中广泛存在,严重威胁人与动物健康。动物饲料在的生产、加工及运输过程中,极易被真菌毒素污染。动物误食被污染的饲料,会导致动物食欲减退、体重下降、免疫力下降,全身各组织器官出现氧化损伤及细胞凋亡等,严重时可导致动物死亡。动物摄入被真菌毒素污染的饲料后,毒素进入消化道,经肠道吸收再随血液分布于动物的组织、血液、奶、蛋中。人类食用残存真菌毒素的动物源性食品,可导致人类发生中毒反应。因此探究真菌毒素的发病机制并建立相应防控措施对畜牧业发展与人类健康至关重要。

目前,世界卫生组织(WHO)已建立部分真菌毒素的限量标准,而国内不同食品及饲料中各真菌毒素的限量标准仍不完善,亟待解决。建立灵敏度高、准确性好、稳定性强的毒素检测方法是真菌毒素风险评估的关键环节。此外,毒素体外吸附研究有助于有效降低被霉菌污染饲料对动物的危害,进而减少养殖业经济损失。关于真菌毒素导致动物细胞氧化损伤及细胞凋亡的部分机制尚不明确,而根据氧化应激与细胞凋亡的相关信号通路,选择恰当的保护剂使动物免受或减轻毒素损伤是当前毒理学研究的热点。本项目建立了有效检测多种真菌毒素的方法,

深入探究了真菌毒素对动物产生毒性的分子机理，并发现可用于防控饲料真菌毒素污染的体外吸附剂，为降低真菌毒素对动物以及人类的危害提供科学理论与应用参考。

本项目以真菌毒素作为研究对象，获得以下重要科学发现或成果：

- 1、利用高效液相色谱串联质谱技术（HPLC-MS/MS），建立检测食品或饲料中真菌毒素的方法。本项目建立 2 种检测饲料与人类食物（香肠、牛肉、猪肝、奶）中 30 种真菌毒素的 HPLC-MS/MS 方法，并用 HPLC-MS/MS 建立一种可同时检测肉鸡体内 11 种组织或器官中 T-2 毒素（T2）、HT-2 毒素（HT2）及蛇形毒素（DAS）的方法。
- 2、探索 T2 与 HT2 在体内、体外对肉鸡产生毒性作用的分子机制。本项目揭示了 T2 与 HT2 均可在体内外诱导肉鸡肝脏发生氧化应激，进而诱导细胞凋亡的分子毒理，并证实这些毒素可能通过该机制导致肉鸡体重下降、食欲减退，甚至死亡。
- 3、发现并鉴定出有效降低真菌毒素危害的体外吸附剂，其中壳聚糖对玉米赤霉烯酮和伏马毒素 B1 等体外吸附效率均超过 90%，而蒙脱土体内外试验均对 T2 表现出良好的吸附效率。
- 4、鉴定出 DL-硒代蛋氨酸可显著提高肉鸡原代肝细胞活性，并阐明其通过增强细胞内抗氧化酶活性，降低活性氧及丙二醛含量，从而缓解由 T2 与 HT2 对细胞造成的氧化损伤的机理。

本项目共发表 SCI 论文 8 篇，其中 7 篇发表于 JCR 分区为 Q2 以上的国际权威期刊，他引总频次为 173 次，其中 SCI 他引总频次为 131 次。

四、 客观评价

经检索，“**真菌毒素对养殖动物危害及其风险防控的研究**”相关研究结果在《Food Control》、《Food and Chemical Toxicology》及《Analytical and Bioanalytical Chemistry》等学科国际主流期刊上发表 SCI 收录论文 8 篇，被国际著名 SCI 期刊它引 131 次。代表性客观评价如下：

1. 对代表性论文 1 的客观评价：

Carolina Santos Pereira 和 Sara C. Cunha 等在 2019 年发表于 Toxins（11(5): 290-351）对代表性论文 1 的评价：A novel, rapid and efficient two-step micro-extraction technique, based on the combination of ionic-liquid-based DLLME (IL-DLLME) with magnetic SPE, was developed by Zhao [106]. 赵采用离子液体基分散液-液微萃取与磁性固相萃取相结合的方法开发了一种新型、快速且高效的两步微萃取技术。（他引性论文 1）

2. 对代表性论文 2 的客观评价:

Qi Deng 和 Mei Qiu 等在 2017 年发表于 *Ecotoxicology and environment safety* (142: 441-447) 对代表性论文 2 的评价: Nevertheless, these forms can be hydrolysed to their parent toxin by enzymatic, acidic or basic reactions in vivo [Zhao et al., 2014]. 然而, 这些形式 (代谢物) 可以在体内通过酶、酸或碱反应水解为母体毒素。(他引性论文 2)

3. 对代表性论文 3 的客观评价:

Alexandr E. Urusov 和 Anatoly V. Zherdev 等在 2015 年发表于 *Toxins* (7:238-254) 对代表性论文 3 的评价: The development of such methods is mainly focused on chromatography, chromatography coupled with mass spectrometry [12]. 这些方法 (检测饲料或食品毒素) 的发展主要集中于色谱法、色谱法-质谱法相结合的方法。(他引性论文 3)

4. 对代表性论文 4 的客观评价:

Christopher T. Elliott 和 Lisa Connolly 等在 2020 年发表于 *Mycotoxin Research* (36:115-126) 对代表性论文 4 的客观评价: Significantly improved growth, serum biochemical parameters and reduced the level of toxins in tissues [Yang et al. (2014)]. (蒙脱土) 可显著促进动物生长, 提高生化指标, 降低各组织中真菌毒素的水平。(他引性论文 4)

5. 对代表性论文 5 的客观评价:

Depeng Dai 和 Yuanhu Pan 等在 2019 年发表于 *Chemico-Biological Interactions* (316: 108912.) 对代表性论文 5 的客观评价: A previous study had already confirmed that the exposure to T-2 caused a significant reduction in serum total protein (TP) and a marked increases in the activities of ALT and AST, and that T-2 and HT-2 also caused oxidative stress, and subsequently affected the antioxidant status in poultry [45]. 先前已有研究证实家禽暴露于 T-2 会导致其血清总蛋白显著降低, ALT 和 AST 活性显著升高, T-2 和 HT-2 也会引起氧化应激, 进而影响家禽的抗氧化状态。(他引性论文 5)

6. 对代表性论文 6 的客观评价:

Jiri Kudr 和 Lei Zhao 等在 2020 年发表于 *Biosensors and Bioelectronics* (156:112109) 对代表性论文 6 的客观性评价: Causing apoptosis and inhibiting

protein synthesis, HT-2 is contaminant of concern to human and animal health (Yang et al. 2017). HT-2 毒素可导致细胞凋亡并抑制蛋白质的合成，是威胁人类和动物健康的污染物。（他引性论文 6）

7. 对代表性论文 7 的客观评价：

Pavel Horky 和 Sylvie Skalickova 等在 2018 年发表于 *Nanomaterials* (8: 727-747) 对代表性论文 7 的客观评价：Glutaraldehyde crosslinked chitosan showed promising adsorption ability for AFL B1 (73%), OTA (97%), ZEN (94%), and FUM 1 (99%) but no obvious adsorption for DON and T2 (<30%) in a buffer system simulating gastrointestinal conditions [113]. 戊二醛交联壳聚糖对 AFL-B1 (73%)、OTA (97%)、ZEN (94%) 和 FUM-1 (99%) 有良好的吸附性能，但在模拟胃肠道条件的缓冲体系中对 DON 和 T2 (<30%) 无明显的吸附效果。（他引性论文 7）

8. 对代表性论文 8 的客观评价：

Jin Zhang 和 Wanyin Cai 等在 2019 年发表于 *Atherosclerosis* (209: 9-18) 对代表性论文 8 的可客观性评价：Gsh-px activity can thus be used to evaluate the ability of cells to resist oxidative damage [62]. 因此，Gsh-px 活性可以用于评估细胞抵抗氧化损伤的能力。（他引性论文 8）

五、 代表作及论文目录

1. **Zhiyong Zhao**, Na Liu, **Lingchen Yang**, Yifeng Deng, Jianhua Wang, Suquan Song, Shanhai Lin, Aibo Wu, Zhenlei Zhou, **Jiafa Hou**, Multi-mycotoxin analysis of animal feed and animal-derived food using LC–MS/MS system with timed and highly selective reaction monitoring, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2015 年 407 卷 7359–7368 页, **IF: 3.286**
2. **Zhiyong Zhao**, Qinxiong Rao, Suquan Song, Na Liu, Zheng Han, **Jiafa Hou**, Aibo Wu, Simultaneous determination of major type B trichothecenes and deoxynivalenol-3-glucoside in animal feed and raw materials using improved DSPE combined with LC-MS/MS, **Journal of Chromatography B**, 2014 年 963 卷 75-82 页, **IF: 2.813**
3. **Lingchen Yang**, **Zhiyong Zhao**, Aibo Wu, Yifeng Deng, Zhenlei Zhou, Jianpeng Zhang, **Jiafa Hou**, Determination of trichothecenes A (T-2 toxin, HT-2 toxin, and diacetoxyscirpenol) in the tissues of broilers using liquid chromatography coupled

to tandem mass spectrometry, **Journal of Chromatography B**, 2013 年 942–943 卷 88-97 页, **IF: 2.813**

4. **Lingchen Yang, Zhiyong Zhao**, Yifeng Deng, Zhenlei Zhou, **Jiafa Hou**, Toxicity induced by *F. poae*-contaminated feed and the protective effect of Montmorillonite supplementation in broilers, **Food and Chemical Toxicology**, 2014 年 74 卷:120-130 页, **IF: 3.775**
5. **Lingchen Yang**, Zezhong Yu, **Jiafa Hou**, Yifeng Deng, Zhenlei Zhou, **Zhiyong Zhao**, Jun Cui, Toxicity and oxidative stress induced by T-2 toxin and HT-2 toxin in broilers and broiler hepatocytes, **Food and Chemical Toxicology**, 2016 年 87 卷 128-137 页, **IF: 3.775**
6. **Lingchen Yang, Di Tu, Zhiyong Zhao**, Jun Cui, Cytotoxicity and apoptosis induced by mixed mycotoxins (T-2 and HT-2 toxin) on primary hepatocytes of broilers in vitro, **Toxicon**, 2017 年 129 卷 1-10 页, **IF: 2.276**
7. **Zhiyong Zhao**, Na Liu, **Lingchen Yang**, Jianhua Wang, Suquan Song, Dongxia Nie, Xianli Yang, **Jiafa Hou**, Aibo Wu, Cross-linked chitosan polymers as generic adsorbents for simultaneous adsorption of multiple mycotoxins, **Food Control**, 2015 年 57 卷 362-369 页, **IF: 4.248**
8. **Lingchen Yang, Di Tu**, Naidong Wang, Zhibang Deng, Yang Zhan, Wei Liu, Yi Hu, Tanbin Liu, Lei Tan, Yalan Li, Shiyin Guo, **Aibing Wang**, **Toxicology in Vitro**, 2019 年 54 卷 137-146 页, **IF: 3.067**

六、 主要完成人情况

第一完成人：姓名：杨凌宸，排名：1，行政职务：无，技术职称：讲师。工作单位：湖南农业大学，完成单位：湖南农业大学

对本项目的贡献：对重要发现 1-5 均做出贡献，是代表性论文 3，4，5，6，8 的第一作者或通讯作者，贡献率 70%。

第二完成人：姓名：王爱兵，排名：2，行政职务：无，技术职称：教授。工作单位：湖南农业大学，完成单位：湖南农业大学

对本项目的贡献：对重要科学发现 5 做出了贡献，是代表性论文 8 的通讯作者，贡献率 60%。

第三完成人：姓名：侯加法，排名：3，行政职务：无，技术职称：教授。工

作单位：南京农业大学，完成单位：南京农业大学

对本项目的贡献：对重要科学发现 1-5 均做出贡献，是代表性论文 1, 3, 4, 5 的通讯作者，贡献率 60%。

第四完成人：姓名：赵志勇，排名：4，行政职务：无，技术职称：副研究员。工作单位：上海市农业科学院，完成单位：上海市农业科学院

对本项目的贡献：对重要科学发现 1 和 4 做出贡献，是代表性论文 1, 2, 7 的第一作者，贡献率为 40%。

第五完成人：姓名：屠迪，排名：5，行政职务：无，技术职称：讲师。工作单位：湖南农业大学，完成单位：湖南农业大学

对本项目的贡献：对重要科学发现 3 和 5 做出贡献，是代表性论文 6 的共同第一作者，贡献率 30%。

第六完成人：姓名：谭磊，排名：6，行政职务：无，技术职称：无。工作单位：湖南农业大学，完成单位：湖南农业大学

对本项目的贡献：对重要科学发现 5 做出贡献，贡献率 30%。

七、 主要完成单位

第一完成单位：湖南农业大学

该项目后期工作基于湖南农业大学引进人才项目计划“T-2 毒素与 HT-2 毒素引起肉鸡肝细胞损伤与细胞凋亡相关机理研究”，主要探究 T-2 与 HT-2 造成肉鸡原代肝细胞氧化应激与细胞凋亡的相关分子机制，明确 T-2 与 HT-2 造成肉鸡肝脏损伤与肝脏的氧化应激及细胞凋亡相关。并进而探究 DL-硒代蛋氨酸的抗氧化机制，为缓解真菌毒素造成的氧化应激，开发新型饲料添加剂提供技术指导。本单位是该项目 2 篇代表性论文的第一完成单位。

第二完成单位：南京农业大学

该项目前期工作基于国家重点基础研究发展计划（973 计划）“日常饲料霉菌毒素在肉鸡体内的转运分布规律及吸附剂的解毒作用”，探究真菌毒素的风险评估及其对动物的毒性作用研究。建立了两种检测真菌毒素的 HPLC-MS/MS 方法，可检测动物饲料、动物源性食品及动物组织内真菌毒素的含量，为后期真菌毒素的防控提供了科学依据。此外，还发现肉鸡采食被梨孢镰刀菌污染的饲料，会导致毒性作用及肝脏的氧化剂应激与细胞凋亡，这为探究真菌毒素造成动物毒性作用的机制提供了研究基础。本单位是该项目 4 篇代表性论文的第一完成单位。

第三完成单位：上海市农业科学院

本单位建立了饲料及原料中主要真菌毒素的高通量检测技术，初步探明了我国饲料中真菌毒素种类与水平，开发了新型壳聚糖聚合物用于饲料中 AFB1、ZEN、FB1 及 OTA 的吸附，实现真菌毒素体外脱毒。本单位共参与了该项目 4 篇代表性论文的研究工作。

八、 主要完成人合作关系说明

本人与王爱兵、侯加法、赵志勇、屠迪和谭磊共同完成本项目，合作单位分别为湖南农业大学、南京农业大学和上海市农业科学院。

1. 2010 年 9 月至 2016 年 10 月，本人与侯加法、赵志勇合作发表 SCI 论文共计 5 篇，分别是为代表性论文 1、3、4、5 和 7，分别发表在《Analytical and Bioanalytical Chemistry》、《Journal of Chromatography B》、《Food and Chemical Toxicology》及《Food Control》。其中南京农业大学是代表性论文 1、3、4、5 的第一完成单位，是代表性论文 7 的第二完成单位。上海农业科学院是代表性论文 1 和 3 的第二完成单位，是代表性论文 7 的第三完成单位。
2. 2012 年 9 月至 2014 年 6 月，侯加法与赵志勇合作发表 SCI 论文 1 篇，为代表性论文 2，发表在《Journal of Chromatography B》。其中上海农业科学院是第一完成单位，南京农业大学是第二完成单位。
3. 2015 年 7 月至 2017 年 1 月，本人与赵志勇、屠迪合作发表 SCI 论文 1 篇，为代表性论文 6，发表在《Toxicon》。其中湖南农业大学是第一完成单位，南京农业大学是第二完成单位。
4. 2016 年 2 月至 2018 年 9 月，本人与王爱兵、屠迪、谭磊合作发表 SCI 论文 1 篇，为代表性论文 8，发表在《Toxicology in Vitro》，湖南农业大学为第一完成单位。