

犬牙僵虾虎鱼体内河豚毒素季节性变化规律

朱国萍^{1,2,3}, 疗建萌⁴, 伍彬^{1,2,3}, 叶宁⁵, 李寨旺⁵

(1. 广东海洋大学 食品科技学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524088; 3. 水产品深加工广东普通高等学校重点实验室, 广东 湛江 524088; 4. 湛江市质量监督所, 广东 湛江 524025; 5. 广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524088)

摘要: 为了解犬牙僵虾虎鱼体内河豚毒素毒性的动态变化, 于2012年1月至12月, 对湛江港地区犬牙僵虾虎鱼毒性变化进行了一周年的跟踪监测, 利用质谱定量检测其体内的毒力, 研究其毒性变化规律。实验结果表明: 犬牙僵虾虎鱼体内河豚毒素毒力呈季节性变化, 每年的春、秋季毒力较高, 其中春季3月是全年毒力最高的月份, 整鱼毒力达 0.300×10^{-6} 。对犬牙僵虾虎鱼各部位毒力作进一步分析表明, 河豚毒素在犬牙僵虾虎鱼各部位的积蓄程度不一, 3月犬牙僵虾虎鱼河豚毒素主要积蓄于性腺, 毒力达 0.433×10^{-6} , 其次为鱼肝、鱼头, 毒力最低的部位为鱼身; 7月犬牙僵虾虎鱼毒素主要积蓄于鱼皮, 其次为鱼肝、鱼头, 毒力最低的部位仍为鱼身; 3月、4月及6月至10月河豚毒素在鱼头的积蓄明显高于鱼身, 毒力最高时期的3月鱼头毒力达 0.356×10^{-6} , 2月和11月河豚毒素在鱼身的积蓄高于鱼头, 2月鱼身毒力达 0.325×10^{-6} 。

关键词: 犬牙僵虾虎鱼; 河豚毒素; 毒性

中图分类号: Q178.53

文献标识码: A

文章编号: 1007-6336(2015)01-0066-04

The seasonal variation of tetrodotoxin in *Amoya caninus*

ZHU Guo-ping^{1,2,3}, LIAO Jian-meng⁴, WU Bin^{1,2,3}, YE Ning⁵, LI Zhai-wang⁵

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang 524088, China; 3. Key Laboratory of Aquatic Product Advanced Processing of Guangdong Higher Education Institutes, Zhanjiang 524088, China; 4. Zhan Jiang Quatity Supervision, Zhanjiang 524025, China; 5. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: To find out the toxicity dynamics of tetrodotoxin, samples of *Amoya caninus* were collected from Zhanjiang harbor of Guangdong Province once a month from January to December in 2012, and the toxicity of the samples was detected by the liquid chromatography-mass spectrometry method to study the regulational change of toxicity. Results showed that the toxin in *Amoya caninus* were varies with seasonal, spring and April were higher than other period, the highest toxicity was 0.300×10^{-6} in March in spring in the year. The further research revealed that the deposited concentration of toxins was different in different position: Gonad is the main organ to deposite the toxicity, the concentration is reached to 0.433×10^{-6} in March. The secondary is fish liver, fish head, the lowest is fish body; but in July the highest deposited organ is fish skin, The secondary is fish liver, fish head, and the lowest is also fish body; Tetradotoxin deposited more in fish head than in fish body in March, April, June and October from January to December, the concentration come up to 0.356×10^{-6} in March, but the toxicity is more in fish body than fish head in February and November, and the concentration come up to 0.325×10^{-6} in February.

Key words: *Amoya caninus*; tetrodotoxin; toxicity

收稿日期: 2014-04-22, 修订日期: 2014-06-12

基金项目: 广东省科技厅项目(2011B020314008); 湛江市科技局项目(2011C301004); 广东省海洋渔业科技推广专项: 流沙湾养殖容量与环境影响效应研究(A201201102); 广东省科技计划项目: 流沙湾生物多样性与生态系统健康评价研究(2011B031100012)

作者简介: 朱国萍(1977-), 女, 广东湛江人, 高级实验师, 硕士研究生, 主要从事水产品加工及水产品质量安全, E-mail: zjougp@163.com

通讯作者: 叶宁(1972-), 男, 上海人, 高级实验师, 硕士研究生, 主要从事水产养殖, E-mail: zjouyn@163.com

虾虎鱼类是隶属于鲈形目(Perciformes)、虾虎鱼亚目(Gobioidae)的一群个体不大而种类繁多的底栖鱼类,其生态栖息场所随种类的不同而多变,从河口、滩涂、砂岸、岩岸、浅海均有分布,底质为泥砂、石砾且藻类丛生的沿岸带是众多虾虎鱼的栖息地^[1]。湛江沿海海岸线长,沿海环境复杂多变,适合于虾虎鱼类栖息的生境相当广泛,生活着种类繁多、数量众多的虾虎鱼。虾虎鱼肉质鲜美、营养丰富,有滋补功效,沿海居民素有吃虾虎鱼的习惯,但部分虾虎鱼体内含有河豚毒素(tetrodotoxin, TTX),居民难以判定虾虎鱼是否含TTX,导致虾虎鱼中毒事件时有发生^[2],2007年在徐闻县发生的一起因误食有毒虾虎鱼导致16人中毒、1人死亡的严重事故^[3]再一次向我们敲响了警钟,引起相关部门对有毒虾虎鱼监测的极大关注。

犬牙僵虾虎鱼(*Amoya caninus*)为暖水性沿岸小型鱼类,以底栖动物、有机碎屑为食^[2]。1997年黄登福等首次于犬牙僵虾虎鱼体内发现TTX^[2],2000年台湾学者LIN等发现台湾的犬牙僵虾虎鱼含毒个体占采集总标本的率为50%^[2]。然而目前,对大陆地区的犬牙僵虾虎鱼研究较少,虽未见有关食用犬牙僵虾虎鱼导致TTX中毒的报道,但台湾地区的犬牙僵虾虎鱼体内TTX阳性检出率较高,为保障公众健康,防止犬牙僵虾虎鱼可能存在对人体健康威胁的因素,有关方面仍应该引起足够的重视。

本研究以湛江港地区的犬牙僵虾虎鱼作为研究对象,以质谱定量测定犬牙僵虾虎鱼体内TTX的含量,探讨犬牙僵虾虎鱼体内TTX季节性变化规律及体内各部位毒素积蓄规律,为相关职能部门提供毒素监测的理论数据。

1 材料与方法

1.1 原料

犬牙僵虾虎鱼:于2012年由广东海洋大学水产学院老师定期每月采样一次,样品采回后对样品鉴定品名、解剖、小袋分装后于-18℃冰箱中保存。

1.2 仪器设备

液相色谱质谱联用仪:TSQ Quantum Access(美国THERMOFisher);液相色谱柱:Thermo Hypersil SCX、Thermo Hypersil GOLD C18;电子分析

天平:XS205(METTELER TOLEDO);均质器:T18数显型分散机(德国IKA)

甲醇(色谱纯)购自天津大茂化学试剂厂;乙腈(色谱纯)购自天津大茂化学试剂厂;甲酸、乙酸、乙酸铵(优级纯)购自广州化学试剂厂。

1.3 样品前处理

已解冻的鱼10来条,用搅拌机搅碎,称取搅碎的样品5g于50mL塑料离心管中,加入0.5%乙酸溶液3mL,10000 r/min均质30s,用10mL乙酸溶液分3次清洗刀头并将清洗刀头乙酸溶液接入同一离心管中,再加入0.5%乙酸溶液于离心管中至约20mL,超声波提取10min后取出,100℃水浴20min,取出后,加入5mL甲醇,振荡混匀后4000 r/min超低温离心10min,上清液过0.20 μm膜,上液相色谱质谱联用仪测定。

2 结果与讨论

2.1 犬牙僵虾虎鱼TTX毒力季节性变化趋势

本研究以湛江港地区的犬牙僵虾虎鱼作为实验样品,研究此地区犬牙僵虾虎鱼体内TTX毒力及季节性变化。实验结果如图1所示,犬牙僵虾虎鱼整鱼、鱼头和鱼身的TTX含量均呈季节性变化,毒素含量在上半年和下半年均出现一个较明显的峰。1月TTX含量较低,2月TTX含量迅速上升,于2月至3月间TTX含量达到上半年的峰值,鱼身于2月达到最高含量,TTX含量达到 0.325×10^{-6} ,鱼头和整鱼TTX含量均于3月达到最高含量,TTX含量分别为 0.356×10^{-6} 和 0.300×10^{-6} ,4月TTX含量逐渐下降,至5月TTX含量下降到全年最低值,6月、7月TTX含量缓慢增加,8月TTX含量较大幅度上升,10月TTX含量稍降低后于11月再次上升,形成下半年最高的峰值,11月整鱼、鱼头及鱼身的TTX含量分别达 0.235×10^{-6} 、 0.218×10^{-6} 和 0.273×10^{-6} ,12月TTX含量再大幅度降低。2月、3月、4月和11月的虾虎鱼鱼头、鱼身及整鱼TTX含量均较高,5月、6月、7月和12月的TTX含量均极低;各月TTX含量相比较,多数月份鱼头TTX含量高于鱼身和整鱼TTX含量,少数月份如2月和11月鱼身TTX含量高于鱼头和整鱼TTX含量。

本实验结果表明湛江港地区犬牙僵虾虎鱼TTX的毒力呈季节性变化,每年春、秋两季毒力较高,其中春季3月毒力全年最高,这与HWANG

等^[4]对台湾的方格织纹螺(*Niotha clathrata*)毒素研究的结果相似,HWANG 等研究结果表明台湾的方格织纹螺(*Niotha clathrata*)毒素的毒力有季节性变化,加上地区性差异,毒力较高的样品一般都集中在4月至11月这个时期。春秋季节 TTX 含量较高可能与这一季节气温适宜有关。春秋季节时期海水温度适合海洋生物的大量繁殖,其中包括积蓄 TTX 的海藻类生物的大量生长,这些积蓄 TTX 的海藻类生物通过食物链进入虾虎鱼体内,并于虾虎鱼体内积蓄,导致这一时期的虾虎鱼体内的毒力远高于夏冬季虾虎鱼体内的毒力;夏冬季,气温要么过高,要么过低使海洋生物在这一季节枯萎、死亡,海藻类生物大量干枯、死亡,从而使食物链中 TTX 含量下降,虾虎鱼摄取的生物含毒量较低,并最终导致夏冬季虾虎鱼体内的毒力减弱。大量的研究结果也表明 TTX 来源于海洋放线菌^[5],贝类、蟹类、章鱼、蛸类等生物都是通过食物链而带毒的^[6];张农等^[7]对织纹螺毒素来源的研究也显示 TTX 对织纹螺有较强诱食作用,织纹螺更喜爱摄食有毒的河豚鱼肉;HWANG 等的研究也表明 TTX 对带有 TTX 的螺有诱食作用,而对无毒螺没有诱食作用,说明带有 TTX 的螺更倾向于觅食含有 TTX 的食物^[8]。这些研究结果均表明鱼、贝类体内 TTX 可能通过食物链在生物体内积蓄而成,不同季节不同时期海区中的生物含量不一,使食物链中生物体所含的毒素含量产生差异,从而导致犬牙僵虾虎鱼体内 TTX 含量呈季节性变化。

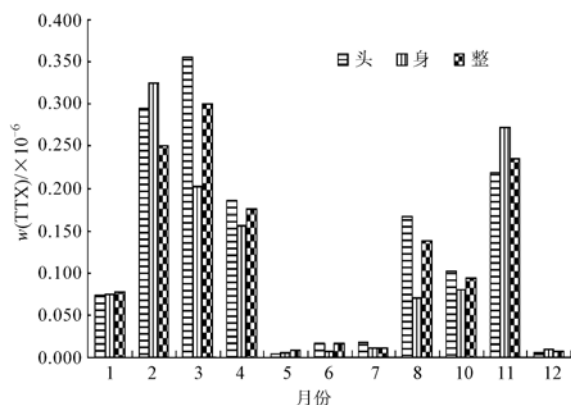


图1 犬牙僵虾虎鱼鱼头、鱼身及整鱼毒素含量变化趋势

Fig. 1 The tendencies of toxicity in fish head、body and entire fish of *Amoya caninus*

2.2 犬牙僵虾虎鱼不同部位毒素积蓄规律

3月和7月 TTX 在犬牙僵虾虎鱼各部位的积

蓄含量如图2所示,3月犬牙僵虾虎鱼各部位毒素含量均高于7月,其中3月犬牙僵虾虎鱼性腺的 TTX 含量明显高于其他部位,达 0.433×10^{-6} ,各部位毒素含量高低依次为性腺 > 肝脏 > 鱼头 > 整鱼 > 鱼身,其中鱼头、鱼身与整鱼的毒素含量较接近;7月犬牙僵虾虎鱼各部位毒素含量均较低,但各部位毒素含量依然存在差距,7月犬牙僵虾虎鱼鱼皮毒素含量在各部位中含量最高,其次为肝脏含量,整鱼、鱼头、鱼身的毒素含量均较低。

TTX 在鱼体不同部位含量差异与毒素在各部分的积蓄有关。有研究表明 TTX 大量存在 TTX 携带动物的卵巢及卵母细胞内,如在河豚、鲎、蓝环章鱼等的卵母细胞都含有 TTX^[9-11],产卵后的河豚更容易受到攻击,相比野生幼鱼具有更高的死亡率,这可能与河豚产卵后体内 TTX 浓度下降有关^[12];TTX 携带动物为了防御其他动物的攻击,会把河豚毒素贮存在皮肤组织内特别是在分泌颗粒腺体内^[13-15];部分 TTX 携带动物会把 TTX 贮存在头部附近,通过毒素来麻痹它们的食物^[16],因此 TTX 携带动物会利用 TTX 作为攻击其他生物的工具而于某一部位积蓄。从图1和2可以看出,2012年大多数月份犬牙僵虾虎鱼鱼头 TTX 含量高于鱼身 TTX 含量,表明 TTX 在鱼头的积蓄较多;对2012年3月犬牙僵虾虎鱼各部位毒力检测结果亦显示,TTX 大量积蓄于性腺中,亦较多积蓄于鱼肝中,鱼头中 TTX 的积蓄也较多于鱼身,2012年7月犬牙僵虾虎鱼各部位毒力检测结果显示鱼皮中 TTX 的积蓄较多,而鱼身中 TTX 含量仍然是鱼体各部位中含量最低的部位,我们的实验结果更进一步验证了众多学者的研究结论,犬牙僵虾虎鱼体内的 TTX 更多地积蓄于鱼卵、鱼皮和鱼头中。

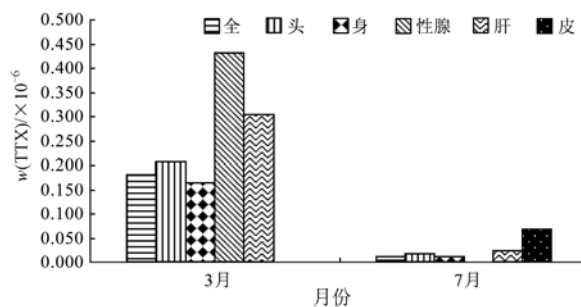


图2 3月、7月犬牙僵虾虎鱼不同部位毒素含量

Fig. 2 The content of toxicity of *Amoya caninus* in March and July

2.3 不同海区同月份犬牙僵虾虎鱼毒素含量比较

测定了湛江港和其他海区2月、3月、6月、10月和12月犬牙僵虾虎鱼的TTX含量,结果如图3所示,除6月湛江港与南三岛犬牙僵虾虎鱼毒力有差别但仍较接近外,2月、3月、10月和12月湛江港与电白、草潭及流沙湾犬牙僵虾虎鱼毒力差异均较大,2月湛江港毒力明显高于电白,但3月、10月和12月湛江港毒力则明显低于草潭和流沙湾,从中我们可知,湛江港犬牙僵虾虎鱼毒力高于电白犬牙僵虾虎鱼毒力,但低于草潭和流沙湾犬牙僵虾虎鱼毒力。

同种虾虎鱼在相同季节不同海区其TTX含量的差异可能与其生长环境相关。伍汉霖^[2]等发现TTX在同种毒素携带动物体内毒力因产区和季节不同而异,如同一种河豚南方海区者其毒性大于北方海区、春季毒性大于其他季节、高盐度地区大于低盐度地区。粤西地区湛江港和电白港位于广州湾,草潭和流沙湾位于北部湾,广州湾内由于相邻鉴江,受由东向西的珠江水系的水流影响,使广州湾内的湛江港和电白港的盐度偏低,导致湛江港虾虎鱼体内的TTX含量远低于北部湾的草潭和流沙湾,这也与伍汉霖所讲的高盐度地区河豚体内TTX含量大于低盐度地区的结论相一致;广州湾内的湛江港和电白港所处的位置不同,湛江港较接近赤道,其纬度比电白港低,所以湛江港的气温高,较适合虾虎鱼的生长,最终使湛江港地区的虾虎鱼TTX含量高于电白港。虾虎鱼最早于海南岛、台湾岛发现,目前在海南岛、台湾岛也发现较多的虾虎鱼,因此我们认为温度较高的地区如亚热带地区可能更适合虾虎鱼生长繁殖。北部湾内无大的河流,盐度偏高,因此北部湾内的草潭和流沙湾虾虎鱼体内的TTX含量远高于广州湾内的湛江港和电白港,北部湾内的草潭和流沙湾所处的位置也不同,流沙湾较接近赤道,其纬度比草潭低,因而流沙湾的气温较高,更适合虾虎鱼的生长,从而使流沙湾的虾虎鱼体内TTX含量高于草潭。不同海区虾虎鱼毒素的差异也可能与全球气候异常导致部分地区的生态环境改变,使原来不适合有毒虾虎鱼生存的地区转变为适合环境有关,2007年3月发生在湛江徐闻县食用虾虎鱼中毒致死也是第一次在大陆沿海有相关记载。尽管河豚鱼类的TTX中毒事件在大陆沿

海屡有发生,但有毒虾虎鱼发生中毒事件仍然较少,其毒性与环境变化的相关性还有待进一步的研究。

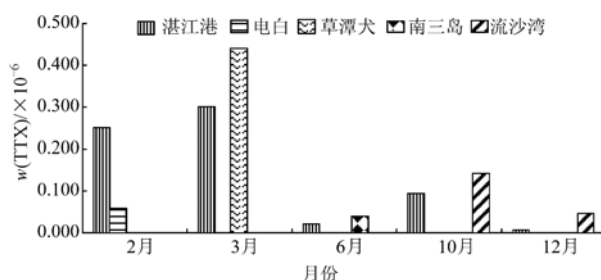


图3 不同海区同月份犬牙僵虾虎鱼毒素含量比较

Fig. 3 The comparison of toxicity content in different sea

3 结论

(1) 湛江港地区犬牙僵虾虎鱼鱼头、鱼身和整鱼TTX含量呈季节性变化,春、秋两季TTX含量较高,其中春季2月鱼身TTX含量达 0.325×10^{-6} ,3月鱼头TTX含量达 0.356×10^{-6} 、整鱼TTX含量达 0.300×10^{-6} 。

(2) TTX在犬牙僵虾虎鱼体内积蓄以性腺和鱼皮居多,其中3月犬牙僵虾虎鱼性腺TTX含量积蓄达 0.433×10^{-6} ,肝脏TTX积蓄亦较多,鱼头、整鱼TTX积蓄较少,鱼身TTX积蓄最少。

(3) 湛江港犬牙僵虾虎鱼TTX毒力高于电白犬牙僵虾虎鱼毒力,但低于草潭和流沙湾犬牙僵虾虎鱼毒力,海区的盐度和气温可能是影响虾虎鱼TTX含量的主要原因。

参考文献:

- [1] 伍汉霖,钟俊生. 中国动物志—硬骨鱼纲鲈形目(五) 虾虎鱼亚目[M]. 北京:科学出版社,2008.
- [2] 伍汉霖,陈永豪,牟阳,等. 中国有毒及药用鱼类新志[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- [3] 叶宁,陈小宏,刘宏良. 湛江西海岸有毒虾虎鱼类调查[J]. 海洋与渔业,2007,12:45-47.
- [4] HWANG D F, LIN L C, JENG S S. Variation and secretion of toxins in gastropod mollusk *Niotha clathrata* [J]. Toxicom, 1992, 30 (10): 1189-1194.
- [5] 杨桂梅,鲍宝龙. 河鲀和河鲀毒素之间关系的研究进展[J]. 上海水产大学学报,2008,17(6):734-739.
- [6] 宋蔚忠,顾杜新. 河豚毒素和石房蛤毒素的中毒与防治[J]. 中国公共卫生,2000,16(10):947-948.
- [7] 张农,苏捷,刘海新,等. 织纹螺毒素来源的研究[J]. 海洋环境科学,2010,29(5):705-707.

(下转第80页)

- 进展[J]. 遥感技术与应用, 2007, 4: 575-580.
- [3] 张朝阳. 遥感影像海岸线提取及其变化检测技术研究[D]. 郑州: 解放军信息工程大学测绘学院, 2006.
- [4] 韩晓庆. 河北省近百年海岸线演变研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- [5] 常军. 基于RS和GIS的黄河三角洲海岸线动态变化监测与模拟预测研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2001.
- [6] 姜义, 李建芬, 康慧, 等. 渤海湾西岸近百年来海岸线变迁遥感分析[J]. 国土资源遥感, 2003, 4: 54-59.
- [7] 肖嗣荣, 李庆辰, 张稳, 等. 河北沿海全新世海侵与岸线变迁探讨[J]. 地理学与国土研究, 1997, 13(2): 47-52.
- [8] 方国智. 基于RS和GIS的辽宁省海岸线百年变迁研究[D]. 北京: 中国地质大学(北京), 2009.
- [9] 沈焕庭, 胡刚. 河口海岸侵蚀研究进展[J]. 华东师范大学学报, 2006, 11(6): 1-8.
- [10] 冯小铭, 韩子章. 南通地区江海岸线近40年之变迁—江海岸的侵蚀和淤积[J]. 海洋地质与第四纪地质[J]. 1992, 12(2): 65-77.
- [11] 杨华, 侯志强. 黄骅港外航道泥沙淤积问题研究[J]. 水道港口, 2004, 25(3): 59-63.
- [12] 张庆河, 林全泓, 秦崇仁, 等. 黄骅港海域沿堤流现象遥感图像分析[J]. 中国港湾建设, 2004, 1: 29-31.
- [13] 阎新兴. 黄骅港近海区沉积物组成与分布特征[J]. 水道港口, 2005, 3: 144-148.
- [14] 黄增, 于开宁. 秦皇岛市海岸线侵蚀变化规律研究[J]. 河北地质学院学报, 1996, 19(2): 136-143.
- [15] 彭士涛, 王心海, 詹水芬, 等. 海洋生态系统及海岸工程生态影响预测模型研究进展[J]. 水道港口, 2009, 30(6): 430-436.
- [16] 窦振兴, 黄克辛, 张存智, 等. 渤海水质控制模型研究 I. 潮流污染扩散模型[J]. 海洋环境科学, 1982, 1(1): 27-54.
- [17] 宋德瑞, 郝煜, 王雪, 等. 我国海域使用发展趋势及空间潜力评价研究[J]. 海洋开发与管理, 2012, 29(5): 14-17.
- [18] ZHANG Y, LI X M, ZHANG J L, et al. A study on coastline extraction and its trend based on remote sensing image date mining[J]. Abstarct and Applied Analysis, Article ID 693194, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/693194>
- [19] 国家海洋局. 中国海洋统计年鉴[M]. 北京: 海洋出版社, 2011: 31.
- [20] 吕京福, 印萍, 边淑华, 等. 海岸线变化速率计算方法及影响因素分析[J]. 海洋科学进展, 2003, 21(1): 52-53.

(上接第69页)

- [8] HWANG P A, NOGUCHI T, HWANG D F. Neurotoxin tetrodotoxin as attractant for toxic snails [J]. Fish Sci, 2004, 70(6): 1106-1112.
- [9] KUNGSUWAN A, NAGASHIMA Y, NOGUCHI T, et al. Tetrodotoxin in the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* inhabiting Thailand [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1987, 53(2): 261-266.
- [10] TANU M B, NOGUCHI T. Tetrodotoxin as a toxic principle in the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* collected from Bangladesh [J]. J Food Hyg Soc Jpn, 1999, 40(6): 426-430.
- [11] SHEUMACK D D, HOWDEN M E, SPENCE I. Occurrence of a tetrodotoxin-like compound in the eggs of the venomous blue-ringed octopus (*Hapalochlaena maculosa*) [J]. Toxicon, 1984, 22(5): 811-812.
- [12] SHIMIZU D, SAKIYAMA K, SAKAKURA Y, et al. Predation differences between wild and hatchery-reared tiger puffer *Takifugu rubripes* juveniles in a salt pond mesocosm [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 2007, 73(3): 461-469.
- [13] WILIAMS B L, CALDWELL R L. Intra organismal distribution of tetrodotoxin in two species of blue ringed octopuses (*Hapalochlaena fasciata* and *H. lunulata*) [J]. Toxicon, 2009, 54(3): 345-353.
- [14] YOTSU-YAMASHITA M, MEBS D, FLACHSENBERGER W. Distribution of tetrodotoxin in the body of the blue-ringed octopus (*Hapalochlaena maculosa*) [J]. Toxicon, 2007, 49(3): 410-412.
- [15] DALY J W. Marine toxins and nonmarine toxins: convergence or symbiotic organisms [J]. Nat Prod, 2004, 67(8): 1211-1215.
- [16] NAGASAWA S. The digestive efficiency of the chaetognath *Sagitta crassa* Tokioka, with observations on the feeding process [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1985, 87(3): 67-75.