

# 双色实时荧光聚合酶链式反应法检测产 玉米赤霉烯酮毒素的黄色镰孢菌

李鑫<sup>1</sup>, 杨爱馥<sup>1</sup>, 陈亮<sup>2</sup>, 蒋斌<sup>3</sup>, 郝风涛<sup>3</sup>, 董伟峰<sup>1</sup>, 郑秋月<sup>4\*</sup>

(1. 大连海关技术中心, 大连 116001; 2. 河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001;  
3. 大连友谊粮食储备库有限公司, 大连 116600; 4. 大连民族大学生命科学院, 大连 116600)

**摘要:** **目的** 建立双色实时荧光聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)法同时检测黄色镰孢菌(*Fusarium culmorum*)及其所产玉米赤霉烯酮毒素合成基因的方法。**方法** 依据 *EF1 $\alpha$*  基因和 *PKS* 基因, 优化建立双色实时荧光 PCR 反应体系和扩增条件; 建立粮食霉变模型, 检测霉变粮食中产毒真菌, 验证方法的特异性、灵敏度和重复性。**结果** 应用本研究设计的引物和探针, 仅产玉米赤霉烯酮毒素的黄色镰孢菌 *EF1 $\alpha$*  和 *PKS* 基因出现特异性扩增, 其余真菌扩增结果均为阴性; 检出限达  $3.5 \times 10^2$  CFU/mL, 重复性良好; 且采用此方法对粮食霉变模型中选取的样品进行检测, 可检出产玉米赤霉烯酮的黄色镰孢菌。**结论** 该方法可准确鉴定霉变粮食中的产玉米赤霉烯酮毒素的黄色镰孢菌, 实现在真菌毒素未产生前或者产生早期, 对粮食受真菌及真菌毒素污染的情况进行早期监控。

**关键词:** 黄色镰孢菌; 玉米赤霉烯酮毒素; *EF1 $\alpha$*  基因; *PKS* 基因; 双色实时荧光聚合酶链式反应法

## Detection of zearalenone toxin-producing *Fusarium culmorum* by dual-color real-time fluorescence polymerase chain reaction

LI Xin<sup>1</sup>, YANG Ai-Fu<sup>1</sup>, CHEN Liang<sup>2</sup>, JIANG Bin<sup>3</sup>, HAO Feng-Tao<sup>3</sup>,  
DONG Wei-Feng<sup>1</sup>, ZHENG Qiu-Yue<sup>4\*</sup>

(1. Technology Center of Dalian Customs District, Dalian 116001, China; 2. College of Bioengineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China; 3. Dalian Youyi Grain Reserve Co., Ltd., Dalian 116600, China;  
4. School of Life Sciences, Dalian Minzu University, Dalian 116600, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for simultaneous detection of *Fusarium culmorum* and its zearalenone toxin synthesis gene by dual-color real-time fluorescence polymerase chain reaction (PCR). **Methods** According to the *EF1 $\alpha$*  gene and *PKS* gene, the establishment of a dual-color real-time PCR reaction system and amplification conditions were optimized; the mildew model of grain was established to detect the toxic fungi in the mildew grain, and the specificity, sensitivity and repeatability of the method were verified. **Results** Using the primers and probes designed in this study, only the *EF1 $\alpha$*  and *PKS* genes of *Fusarium culmorum* producing

基金项目: 科技部“十三五”国家重点研发计划项目(2017YFC1600803-3)、海关总署科研项目(2021HK189)、大连海关科研项目(2021DK10)

**Fund:** Supported by the National Key Research and Development Projects of China During the 13th Five-plan Period (2017YFC1600803-3), the Scientific Research Projects of the General Administration of Customs (2021HK189), and the Scientific Research Projects of Dalian Customs (2021DK10)

\*通信作者: 郑秋月, 博士, 研究员, 主要研究方向为生物安全和食品安全检测技术研发。E-mail: zhengqy@dlnu.edu.cn

\*Corresponding author: ZHENG Qiu-Yue, Ph.D, Professor, Dalian Minzu University, No.18, Liaohe West Road, Dalian Economic and Technological Development Zone, Dalian 116600, China. E-mail: zhengqy@dlnu.edu.cn

zearalenone toxin were amplified specifically, and the amplification results of other fungi were negative; the limit of detection was  $3.5 \times 10^2$  CFU/mL, and the repeatability was good; in addition, the method was adopted for detecting the samples selected in the grain mildew model, and the *Fusarium culmorum* capable of producing zearalenone could be detected. **Conclusion** This method can accurately identify *Fusarium culmorum* producing zearalenone toxin in moldy grain, and realize early monitoring of grain contamination by fungi and mycotoxin before or at the early stage of mycotoxin production.

**KEY WORDS:** *Fusarium culmorum*; zearalenone toxin; *EF1a* gene; *PKS* gene; dual-color real-time fluorescence polymerase chain reaction

## 0 引言

黄色镰孢菌(*Fusarium culmorum*)是污染粮食的一种真菌,主要污染大豆、玉米、水稻、小麦、大麦等粮食谷物<sup>[1-2]</sup>,其中对玉米的污染率最高<sup>[3-5]</sup>。黄色镰孢菌产生的真菌毒素主要是玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZAE),其毒性非常稳定,且耐热性较强,110 °C下处理1 h才被完全破坏<sup>[6]</sup>。ZAE具有雌激素样作用<sup>[7-8]</sup>,通过被污染的谷物、肉及奶制品等进入人体,危害人体生殖系统的发育<sup>[9]</sup>。人体内大量累积玉米赤霉烯酮,可诱发肿瘤等疾病,对人类健康造成危害<sup>[10-11]</sup>。

据统计,全球每年约有25%的农作物被真菌毒素污染,约2%的农作物因污染严重而失去营养和经济价值,造成数千亿美元的经济损失<sup>[12]</sup>。粮食储藏场所主要通过测定储藏场所温度和湿度、监测CO<sub>2</sub>浓度变化、检测粮食品质指标变化判断储藏状况,以通风、降温等手段控制霉菌等微生物生长繁殖,从而减少粮食的霉变发生,但效果十分不理想。马皎洁等<sup>[13]</sup>检测了安徽、云南等12个省650份粮食样品,发现产玉米赤霉烯酮真菌毒素在玉米和小麦中污染严重,玉米中毒素的检出率高达69.30%,超标达到4.32倍。现阶段主要通过检测粮食及其加工产品中是否有霉菌及其真菌毒素,作为控制粮食质量安全的重要手段<sup>[14-16]</sup>。据周玉庭等<sup>[17]</sup>综述,霉菌污染检测方法包括培养形态学鉴定法、荧光分析法、微生物活性测定法、近红外光谱检测法等;毒素污染的检测方法包括高效液相色谱法<sup>[18]</sup>、色谱-串联质谱法<sup>[19]</sup>、酶联免疫吸附法<sup>[20]</sup>、免疫层析试纸条法<sup>[21]</sup>等。当检测出有真菌毒素污染时,粮食产品污染已十分严重,只能被封存处理,且真菌毒素短时期内无法分解,造成的经济损失也无法弥补<sup>[17]</sup>。

随着分子生物学检测方法的发展,HIETANIEMI等<sup>[22]</sup>和TOURNAS等<sup>[23]</sup>利用分子和化学方法判别发生粮食霉变的谷物中镰孢菌和霉菌不同种类。有很多学者将*EF1a*基因位点用于镰孢菌的鉴定<sup>[24-25]</sup>。雷娅红等<sup>[26]</sup>选择*EF1a*等4个候选基因分析11种57株镰孢菌的基因序列。SAMPIETRO等<sup>[27]</sup>通过*TEF1a*测序对包括黄色镰孢菌在内的3个种进行鉴定。目前产毒真菌的检测标准主要根据菌体

培养形态和显微镜下特征进行分类与鉴定,多采用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)或者实时荧光PCR方法鉴定真菌菌株,其所产生的真菌毒素主要依靠气相色谱法、液相色谱法等理化方法进行检测。本研究应用双色实时荧光PCR方法,可以通过一次实时荧光PCR反应同时鉴定产毒真菌及其产真菌毒素基因,实现真菌菌种鉴定及产真菌毒素的同时检测,提高真菌毒素污染检测效率。本研究首次建立了产毒真菌—黄色镰孢菌及其产真菌毒素基因的双色实时荧光PCR快速检测方法,实现了一次实时PCR反应,同时鉴定黄色镰孢菌及其产玉米赤霉烯酮真菌毒素基因。与真菌形态学鉴定方法和真菌毒素理化检测方法比较,双色实时荧光PCR方法具有简便快速、特异性强、灵敏度高、不易造成实验室污染的检测优势,为粮食霉变样品中产毒真菌及其产真菌毒素能力的快速检测提供了新方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

9766 真菌 DNA 提取试剂盒、RR390A Premix ExTaq™[宝日生物技术(北京)有限公司]; 孟加拉红琼脂培养基(北京陆桥技术股份有限公司); 引物及探针由宝生物工程(大连)有限公司合成。

实验菌株及其来源,详见表1。

### 1.2 仪器与设备

QuantStudio6 实时荧光 PCR 仪(美国 ABI 公司); 5430 小型高速离心机(德国 Eppendorf 公司); NanoDrop One 超微量紫外分光光度计(吸收光准确性±2%, 美国热电公司)。

### 1.3 引物与探针设计与筛选

#### 1.3.1 目标基因序列确定

选取 GenBank 数据库中编号 GU370470.1 的黄色镰孢菌 *EF1a* 基因作为菌种鉴定基因片段,通过 GenBank 分析及软件比对,该基因序列片段在黄色镰孢菌种间高度同源,具有菌种特异性。

聚酮合成酶 *PKS* 基因是黄色镰孢菌合成玉米赤霉烯酮毒素的关键基因。选取 GenBank 编号 EU362992.1 的 *PKS* 基因序列,作为黄色镰孢菌产真菌毒素的目标鉴定基因。

表 1 参试菌株  
Table 1 Volunteers strains

序号	菌株名称及编号	来源
1	黄色镰孢菌 CGMCC3.4595	
2	黄色镰孢菌 CGMCC3.4734	
3	黑曲霉 CICC2487	
4	黄曲霉 CICC2219	
5	串珠镰刀菌 CICC2490	中国普通微生物菌种保藏管理中心(China General Microbiological Culture Collection Center, CGMCC)
6	正灰绿正青霉 CICC41097	
7	黑曲霉 CGMCC3.0316	
8	寄生曲霉 CGMCC3.6155	
9	赭曲霉 CGMCC3.4411	
10	棒曲霉 CGMCC3.6890	
11	轮状镰孢菌 ACCC37123	中国农业微生物菌种保藏管理中心(Agricultural Culture Collection of China, ACCC)
12	串珠镰孢菌 ACCC36127	
13	杂色曲霉 CICC2474	中国工业微生物菌种保藏管理中心(China Center of Industrial Culture Collection, CICC)

### 1.3.2 引物探针设计合成

针对 1.3.1 中目标基因序列分别设计特异性引物和以不同荧光素标记的 Taqman 探针, 具体见表 2。以羧基荧光素(carboxyfluorescein, FAM)荧光标记 *EF1 $\alpha$*  基因探针, 以 VIC 荧光标记 *PKS* 基因探针, 引物和探针由宝生物工程(大连)有限公司合成。

表 2 引物与探针序列  
Table 2 Primer and probe sequences

引物及探针	序列
<i>EF1<math>\alpha</math></i> 基因上游引物	5'-GTGGTATCACCATCGATA-3'
<i>EF1<math>\alpha</math></i> 基因下游引物	5'-GTGGTATCACCATCGATA-3'
<i>EF1<math>\alpha</math></i> 基因探针	5'-FAM-ACTCCTCGCTACTATGTCA CCG-TAMRA-3'
<i>PKS</i> 基因上游引物	5'-AGACGGAATCTTTTACCG-3'
<i>PKS</i> 基因下游引物	5'-GTTGGGACACCAAGATAG-3'
<i>PKS</i> 基因探针	5'-VIC-TTCCAACAGCAATCGGACG C-TAMRA-3'

### 1.4 真菌基因组 DNA 的提取

挑取孟加拉红琼脂培养基上的典型黄色镰孢菌单菌落, 提取基因组 DNA 作为实时荧光 PCR 反应的模板。

### 1.5 双色实时荧光 PCR 检测方法建立

对双色实时荧光 PCR 反应体系中的引物探针浓度、*Taq* 酶用量和反应条件进行优化并完成溶解曲线检测, 获得两个基因扩增最佳的双色反应循环阈值(cycle threshold, Ct)和典型的荧光扩增曲线。建立同时鉴定 *EF1 $\alpha$*  基因和 *PKS* 基因的双色实时荧光 PCR 方法。

### 1.6 特异性实验

提取 1.1 中所列的实验菌株基因组 DNA, 用所设计的

特异性引物和探针分别做特异性检测, 验证所建立实时荧光 PCR 方法的特异性。

### 1.7 灵敏度实验

以黄色镰孢菌 CGMCC3.4595 为样本, 在孟加拉红平板上挑选典型菌落培养, 测定菌液浓度为  $3.5 \times 10^8$  CFU/mL, 以此为原液, 递比稀释成  $3.5 \times 10^7$ 、 $3.5 \times 10^6$ 、 $3.5 \times 10^5$ 、 $3.5 \times 10^4$ 、 $3.5 \times 10^3$ 、 $3.5 \times 10^2$ 、 $3.5 \times 10$  CFU/mL, 从每个稀释度中取 1 mL 菌悬液, 按 1.4 方法提取 DNA, 进行荧光 PCR 扩增验证双色实时 PCR 反应的灵敏度, 每浓度梯度 2 次重复。

### 1.8 双色实时荧光 PCR 重复性实验

为验证双重扩增方法的重复性, 选取 6 个浓度培养液的 DNA 提取物, 进行双色荧光方法重复性实验。每个浓度梯度做 3 次平行检测, 记录扩增曲线 Ct 值, 统计分析变异系数, 重点关注检出限值的重复性, 评价双色实时荧光 PCR 反应体系的稳定性。

### 1.9 粮食霉变模拟样品检测

建立了霉菌模拟污染玉米、大米、小麦、杂粮等粮食霉变模型。分别取玉米、大米、小麦、杂粮各 500 g 置于 1 L 模拟仓中, 向粮食表面均匀喷洒适量无菌水, 混合均匀后用塑料薄膜密封, 放置于 30 °C 环境中, 每天观察粮食霉变情况, 观察 7 d。每天每个模型分别取 25 g 样品, 采用双色实时荧光 PCR 方法检测样品中是否产生玉米赤霉烯酮毒素的黄色镰孢菌, 同时用形态学鉴定方法<sup>[28]</sup>进行对照, 验证方法的适用性。

### 1.10 数据统计

分别统计双色实时荧光 PCR 检测方法和形态学方法的阳性检出率, 比对两种方法的检测效果, 使用 SPSS 软件

进行统计学分析差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 双色实时荧光 PCR 方法建立及特异性实验结果

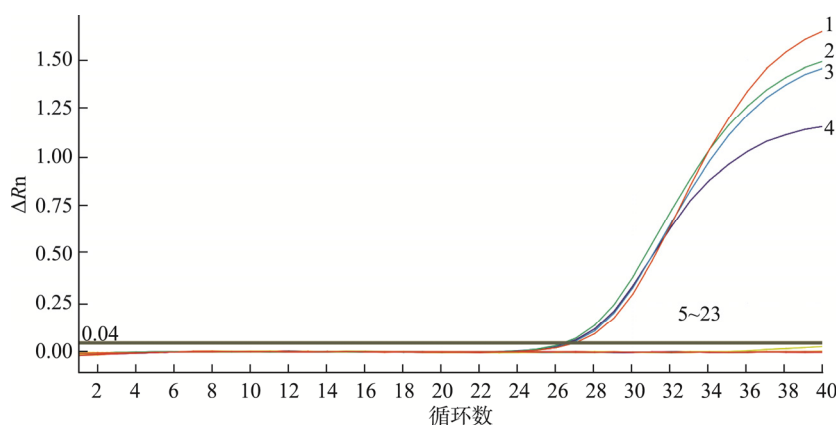
优化双色实时荧光 PCR 反应的引物和探针最终浓度, 以及 Taq 酶用量, 进行双通道荧光 PCR 扩增, 以出现典型扩增曲线且  $Ct \leq 35$  为阳性结果。

经引物和探针最终配比浓度筛选优化, 确定 25  $\mu\text{L}$  反应体系各组分终浓度, premix Ex Taq 聚合酶 12.5  $\mu\text{L}$ 、双色荧光标记探针 20  $\mu\text{mol/L}$  各 1  $\mu\text{L}$ 、两对引物 20  $\mu\text{mol/L}$  各 0.5  $\mu\text{L}$ 、模板 DNA 2  $\mu\text{L}$ 、ddH<sub>2</sub>O 补足至 25  $\mu\text{L}$ 。双色荧光 PCR 反应参数, 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 10 s (1 个循环)、95  $^{\circ}\text{C}$  5 s、60  $^{\circ}\text{C}$  30 s、40 个循环。

分别提取 1.1 中实验菌株的基因组 DNA, 进行双色实时 PCR 法特异性实验。实验结果表明, 应用本研究设计的两组双色实时荧光 PCR 引物和探针, 产玉米赤霉烯酮毒素的 2 种黄色镰孢菌的 *EF1 $\alpha$*  和 *PKS* 基因均出现特异性扩增, 扩增曲线典型。其他真菌 *EF1 $\alpha$*  和 *PKS* 基因扩增结果均为阴性(图 1)。

### 2.2 双色实时荧光 PCR 方法灵敏度实验结果

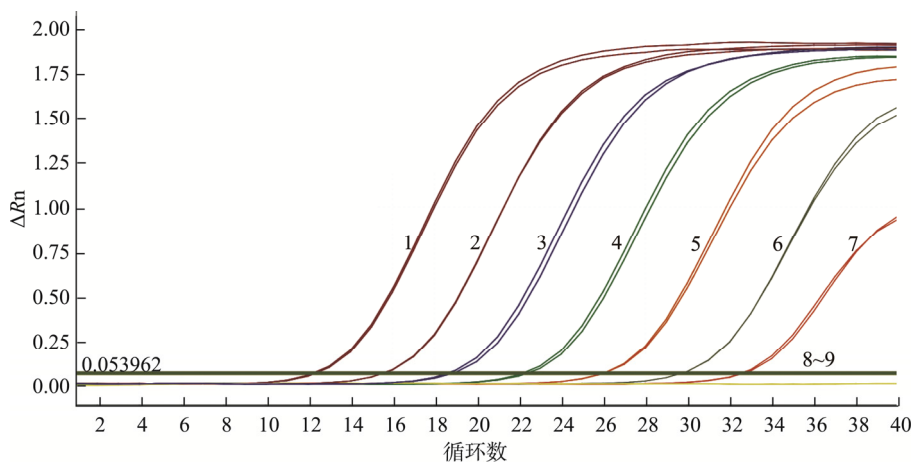
按 1.7 进行灵敏度测试, 原始浓度为  $3.5 \times 10^8$  CFU/mL 的黄色镰孢菌培养液经梯度稀释, 每个梯度的菌液浓度与两个目标基因的扩增 Ct 值有很好的线性关系, 浓度越高 Ct 值越低。黄色镰孢菌 *EF1 $\alpha$*  和 *PKS* 基因双色实时荧光 PCR 方法的检出限达  $3.5 \times 10^2$  CFU/mL。双色实时荧光 PCR 检测黄色镰孢菌 *EF1 $\alpha$*  基因灵敏度结果如图 2 所示、双色实时荧光 PCR 检测黄色镰孢菌 *PKS* 基因灵敏度结果如图 3 所示。



注: 1: 黄色镰孢菌 CGMCC3.4595 *EF1 $\alpha$*  基因; 2: 黄色镰孢菌 CGMCC3.4734 *EF1 $\alpha$*  基因; 3: 黄色镰孢菌 CGMCC3.4595 *PKS* 基因; 4: 黄色镰孢菌 CGMCC3.4734 *PKS* 基因; 5~23: 表 1 中其他菌株 *EF1 $\alpha$*  基因和 *PKS* 基因及空白对照。

图 1 双色荧光检测黄色镰孢菌 *EF1 $\alpha$*  基因和 *PKS* 基因特异性实验结果

Fig.1 Specificity verification results of *Fusarium culmorum* *EF1 $\alpha$*  genes and *PKS* genes by dual-color fluorescence PCR



注: 1:  $3.5 \times 10^8$  CFU/mL; 2:  $3.5 \times 10^7$  CFU/mL; 3:  $3.5 \times 10^6$  CFU/mL; 4:  $3.5 \times 10^5$  CFU/mL; 5:  $3.5 \times 10^4$  CFU/mL; 6:  $3.5 \times 10^3$  CFU/mL; 7:  $3.5 \times 10^2$  CFU/mL; 8:  $3.5 \times 10$  CFU/mL; 9: 空白对照。

图 2 双色实时荧光 PCR 检测黄色镰孢菌 *EF1 $\alpha$*  基因灵敏度结果

Fig.2 Sensitivity results of *Fusarium culmorum* *EF1 $\alpha$*  genes by dual-color fluorescence PCR

2.3 双色荧光 PCR 反应重复性实验结果

选取从低至高 6 个稀释梯度菌液提取的 DNA 进行双色荧光 PCR 反应重复性实验, 每个浓度做 3 个平行测试, 统计分析 Ct 值变异系数, 双色实时荧光 PCR 检测黄色镰孢菌 *EF1α* 和 *PKS* 基因重复性测试结果见表 3。6 个稀释梯度的反应液扩增 Ct 值变异系数均小于 2%。检测低限值两个目的基因的 Ct 值变异系数分别为 1.24 和 1.39, 实验结果表明双色实时荧光 PCR 方法重复性好, 可以灵敏稳定地检测出产玉米赤霉烯酮毒素的黄色镰孢菌。

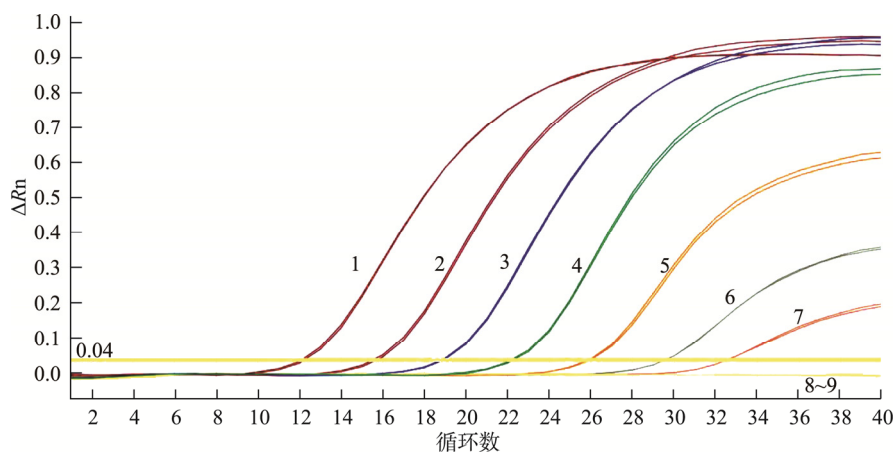
2.4 粮食霉变模拟样品检测

分析 20 个粮食霉变模拟样品的检测结果, 经双色实时荧光 PCR 方法检测, 从 5 个样品中检出产玉米赤霉烯酮的黄色镰孢菌, *EF1α* 和 *PKS* 基因扩增结果阳性, 检测结果

如图 4 所示。采用本方法和形态学方法实际检测了 20 个样品, 两种方法的阳性检出率都为 100%,  $P>0.05$ , 两种方法阳性检出率没有差异, 两种方法检出结果一致。

3 结论与讨论

粮食霉变和真菌毒素污染严重威胁国家粮食质量和人民的消费健康。目前产毒真菌鉴定及真菌毒素检测主要存在几个技术难题, 一是镰孢菌属真菌的形态特征多样, 单纯依靠传统形态学分类方法很难鉴定到菌种水平, 鉴定结果易受检验者主观经验影响; 二是真菌培养时间长至 10 d, 培养出的孢子容易污染实验室环境; 三是真菌毒素理化检测方法成本比较高。因此, 急需研发早期快速精准的粮食霉变和真菌毒素污染检测技术。



注: 1:  $3.5 \times 10^8$  CFU/mL; 2:  $3.5 \times 10^7$  CFU/mL; 3:  $3.5 \times 10^6$  CFU/mL; 4:  $3.5 \times 10^5$  CFU/mL; 5:  $3.5 \times 10^4$  CFU/mL; 6:  $3.5 \times 10^3$  CFU/mL; 7:  $3.5 \times 10^2$  CFU/mL; 8:  $3.5 \times 10$  CFU/mL; 9: 空白对照。

图 3 双色实时荧光 PCR 检测黄色镰孢菌 *PKS* 基因灵敏度结果

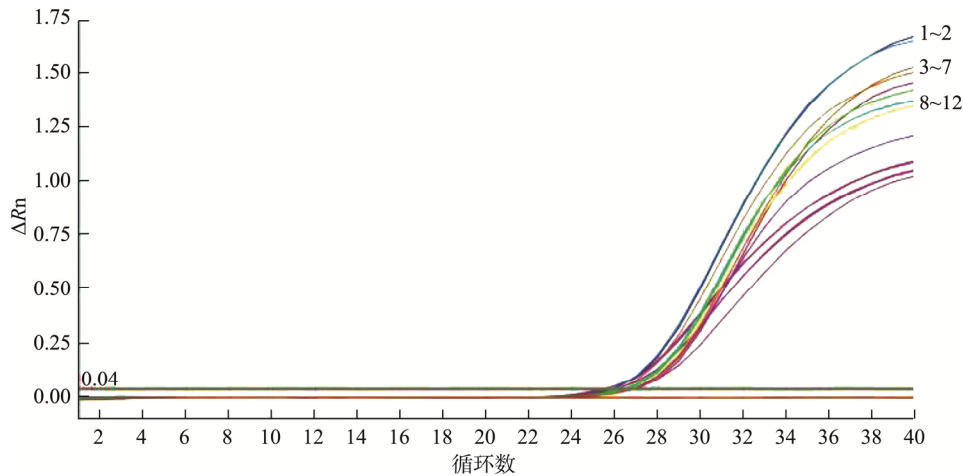
Fig.3 Sensitivity results of *Fusarium culmorum* *PKS* genes by dual-color fluorescence PCR

表 3 双色实时荧光 PCR 检测黄色镰孢菌 *EF1α* 和 *PKS* 基因重复性测试结果( $n=3$ )

Table 3 Repeatability test results of *Fusarium culmorum* *EF1α* genes and *PKS* genes by dual-color fluorescence PCR ( $n=3$ )

菌液浓度/(CFU/mL)	重复 3 次 Ct 值						平均 Ct 值		CV/%	
	<i>EF1α</i>			<i>PKS</i>			<i>EF1α</i>	<i>PKS</i>	<i>EF1α</i>	<i>PKS</i>
	1	2	3	1	2	3				
$1 \times 10^7$	15.49	15.49	15.51	15.5	15.52	15.71	15.50	15.58	0.07	0.74
$1 \times 10^6$	18.55	18.84	18.77	18.85	18.88	18.56	18.72	18.76	0.81	0.94
$1 \times 10^5$	22.14	22.28	22.15	22.28	22.34	22.18	22.19	22.27	0.35	0.36
$1 \times 10^4$	26.04	25.94	25.93	25.89	25.84	25.94	25.97	25.89	0.23	0.19
$1 \times 10^3$	29.65	29.57	29.67	29.48	29.48	29.53	29.63	29.50	0.18	0.10
$1 \times 10^2$	32.32	32.51	31.74	33.34	33.13	32.19	32.19	32.98	1.24	1.39

注: 变异系数(coefficient of variation, CV)。



注: 1~2: 黄色镰孢菌阳性对照 *EF1α* 基因和 *PKS* 基因扩增曲线; 3~7: 霉变模拟样品中 *EF1α* 基因扩增曲线; 8~12: 霉变模拟样品中 *PKS* 基因扩增曲线。

图 4 霉变模拟样品检测含有产玉米赤霉烯酮黄色镰孢菌样品

Fig.4 Samples of *Fusarium culmorum* containing zearalenone toxin-producing maize detected in simulated mildew sample

真菌 *EF1α* 序列具有较高的遗传多样性和种间变异, 分子进化过程与物种的整体进化过程一致, 对亲缘关系较近的种分辨率高, 保障镰孢菌属真菌分类鉴定的准确性<sup>[29-30]</sup>。本研究针对黄色镰孢菌的种属特异基因 *EF1α* 基因<sup>[31]</sup>, 产玉米赤霉烯酮毒素的 *PKS* 基因<sup>[32]</sup>, 采用双色荧光标记方法, 筛选出适合于双色荧光反应的最佳两对引物探针, 优化反应参数, 在通用条件下, 保证两个目标基因的同时高效扩增, 建立了一次实时荧光 PCR 反应同时检测霉变粮食样品中的真菌污染及其产毒素基因的新方法。所建立的产毒真菌快速检测方法, 实现了在真菌毒素产生早期、甚至在真菌毒素未产生前, 及时监测粮食中受产毒真菌污染的风险, 有效提高真菌毒素危害预测能力, 为我国粮食霉变监测和粮食安全快速检测提供新的技术手段。

#### 参考文献

- [1] 马传国, 王英丹. 玉米赤霉烯酮污染状况及毒性的研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2017, 38(1): 122-128.  
MA CG, WANG YD. Research progress on pollution status and toxicity of zearalenone [J]. J Henan Univ (Nat Sci Ed), 2017, 38(1): 122-128.
- [2] NAHLE S, KHOURY AE, ATOUI A. Current status on the molecular biology of zearalenone: Its biosynthesis and molecular detection of zearalenone producing *Fusarium* species [J]. Eur J Plant Pathol, 2021, 159(2): 247-258.
- [3] 董峰光, 阎西革, 宫春波, 等. 2012-2019 年烟台市食品中玉米赤霉烯酮污染状况及暴露评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(1): 376-381.  
DONG FG, YAN XG, GONG CB, et al. Analysis on contamination of zearalenone and dietary exposure assessment in food samples of Yantai City from 2012 to 2019 [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(1): 376-381.
- [4] ROGOWSKA A, POMASTOWSKI P, SAGANDYKOVA G, et al. Zearalenone and its metabolites: Effect on human health, metabolism and neutralisation methods [J]. Toxicon, 2019, 162: 46-56.
- [5] OLIVEIRA MS, ROCHA A, SULLYOK M, et al. Natural mycotoxin contamination of maize (*Zea mays* L.) in the South region of Brazil [J]. Food Control, 2017, 73: 127-132.
- [6] 裴娅晓. 玉米油中玉米赤霉烯酮的控制和去除方法研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2016.  
PEI XY. Research on control and removal effects on zearalenone in maize oil [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2016.
- [7] GAO X, XIAO ZH, LIU M, et al. Dietary silymarin supplementation alleviates zearalenone-induced hepatotoxicity and reproductive toxicity in rats [J]. J Nutr, 2018, 148(8): 1209-1216.
- [8] KHODAEI D, JAVANMARDI F, KHANEGHAH A. The global overview of the occurrence of mycotoxins in cereals: A three-year survey [J]. Curr Opin Food Sci, 2020, 39: 36-42.
- [9] 刘梅, 张晋欣, 刘沙沙, 等. 粮油作物中玉米赤霉烯酮检测方法研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(5): 12-20.  
LIU M, ZHANG JX, LIU SS, et al. Progress in detection methods for zearalenone in grain and oil crops [J]. J Food Sci Biotechnol, 2021, 40(5): 12-20.
- [10] 王丽英, 任贝贝, 刘印平, 等. 河北地区面粉制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物和玉米赤霉烯酮污染水平调查与分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(12): 4023-4028.  
WANG LY, REN BB, LIU YP, et al. Investigation and analysis of deoxynivalenol and its derivatives and zearalenone pollution levels in flour products in Hebei Province [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(12): 4023-4028.
- [11] 王苏楠, 胡寅瑞, 梁栗源. 2018-2019 年洛阳市玉米制品中玉米赤霉烯酮监测结果分析[J]. 应用预防医学, 2021, 27(1): 42-43.  
WANG SN, HU YR, LIANG SY. Analysis of monitoring results of zearalenone in corn products in Luoyang from 2018 to 2019 [J]. Appl Prev Med, 2021, 27(1): 42-43.
- [12] CINAR A, ONBAŞI E. Mycotoxins: The hidden danger in foods [M]. London: Intech Open, 2019.
- [13] 马皎洁, 邵兵, 林肖惠, 等. 我国部分地区 2010 年产谷物及其制品中

- 多组分真菌毒素污染状况研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(6): 481-488.
- MA JJ, SHAO B, LIN XH, *et al.* Study on the natural occurrence of multi-mycotoxin in cereal and cereal-based product samples collected from parts of China in 2010 [J]. *Chin J Food Hyg*, 2011, 23(6): 481-488.
- [14] OLOPADE BK, ORANUSI SU, NWINYI OC, *et al.* Occurrences of deoxynivalenol, zearalenone and some of their masked forms in selected cereals from Southwest Nigeria [J]. *NFS J*, 2021, 23: 24-29.
- [15] JANG JY, KIM S, JIN HS, *et al.* Occurrence of toxigenic *Fusarium* spp. and zearalenone in scabby rice grains and healthy ones [J]. *Res Plant Dis*, 2018, 24: 308-312.
- [16] PERNICA1 M, PIACENTINI KC, BOSKO R, *et al.* The determination of deoxynivalenol and zearalenone in barley from Brazil and malted barley [C]. *Proceedings of 26 International PhD Students Conference*, 2019.
- [17] 周玉庭, 任佳丽, 张紫莺. 粮食中霉菌污染检测方法现状及发展趋势 [J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 244-250.
- ZHOU YT, REN JL, ZHANG ZY. Current situation and development trends of detection methods for mold contamination in grains [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(1): 244-250.
- [18] GOLGE O, KABAK B. Occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in cereals and cereal products from turkey [J]. *Food Control*, 2020, 110: 1-6.
- [19] GIROLAMO AD, CIASCA B, PASCALE M, *et al.* Determination of zearalenone and trichothecenes, including deoxynivalenol and its acetylated derivatives, nivalenol, T-2 and HT-2 toxins, in wheat and wheat products by LC-MS/MS: A collaborative study [J]. *Toxins*, 2020, 12(12): 786-803.
- [20] 刘琦. 基于单克隆抗体的玉米赤霉烯酮检测方法研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2017.
- LIU Q. Study on Immunoassays for the detection of zearaleone based on monoclonal antibody [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2017.
- [21] HAO K, SURYOPRABOWO S, SONG SS, *et al.* Rapid detection of zearalenone and its metabolite in corn flour with the immunochromatographic test strip [J]. *Food Agric Immunol*, 2018, 29(1): 498-510.
- [22] HIETANIEMI V, RÄMÖ S, YLI-MATTILA T, *et al.* Updated survey of *Fusarium* species and toxins in Finnish cereal grains [J]. *Food Addit Contam A*, 2016, 33(5): 831-848.
- [23] TOURNAS VH, NIAZI NS. Potentially toxigenic fungi from selected grains and grain products [J]. *J Food Saf*, 2018, 38(1): e12422.
- [24] 王艺, 周密密, 孙民琴, 等. 进境美国高粱种子中产黄色镰孢菌的检测与鉴定[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(8): 74-78.
- WANG Y, ZHOU MM, SUN MQ, *et al.* Detection and identification of *Fusarium thapsinum* on imported *Sorghum bicolor* seeds from USA [J]. *Hubei Agric Sci*, 2019, 58(8): 74-78.
- [25] 易铭, 梁嘉俊, 史建, 等. 采用 EF-1 $\alpha$  序列分析法对苜蓿根腐病原菌-锐顶镰刀菌的鉴定[J]. 草业学报, 2017, 26(2): 61-68.
- YI M, LIANG JJ, SHI J, *et al.* Identification of *Fusarium acuminatum* isolated from *Medicago sativa* root using the EF-1 $\alpha$  sequence analysis method [J]. *Acta Pratacul Sin*, 2017, 26(2): 61-68.
- [26] 雷娅红, 况卫刚, 郑春生, 等. 基于 DNA 条形码技术对镰刀菌属的检测鉴定[J]. 植物保护学报, 2016, 43(4): 544-551.
- LEI YH, KUANG WG, ZHENG CS, *et al.* Detection and identification of the genus *Fusarium* by DNA barcoding [J]. *J Plant Protect*, 2016, 43(4): 544-551.
- [27] SAMPIETRO DA, MARIN P, IGLESIASA J, *et al.* A molecular based strategy for rapid diagnosis of toxigenic *Fusarium* species associated to cereal grains from Argentina [J]. *Fungal Biol*, 2010, 114: 74-81.
- [28] LESLIE JF, SUMMERELL BA. *The Fusarium laboratory manual* [M]. USA: Blackwell Publishing, 2006.
- [29] 陈楠, 潘晓静, 姚远, 等. 东北地区玉米茎腐病镰孢菌 EF-1 $\alpha$  基因序列分析鉴定[J]. 玉米科学, 2015, 23(4): 143-148.
- CHEN N, PAN XJ, YAO Y, *et al.* Sequence analysis of EF-1 $\alpha$  gene in *Fusarium* species causing the maize stalk rot in Northeast China [J]. *J Maize Sci*, 2015, 23(4): 143-148.
- [30] MINATI MH, MOHAMMED-AMEEN MK. Novel report on six *Fusarium* species associated with head blight and crown rot of wheat in Basra Province, Iraq [J]. *Bull Nation Res Cent*, 2019, 43(1): 139-154.
- [31] ZHOU H, HE X, WANG S, *et al.* Diversity of the *Fusarium* pathogens associated with crown rot in the Huanghuai wheat growing region of China [J]. *Environ Microbiol*, 2019, 21(8): 2740-2754.
- [32] SCHMIDT R, DURLING MB, JAGER V, *et al.* Deciphering the genome and secondary metabolome of the plant pathogen *Fusarium culmorum* [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2018, 94(6): 1-12.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

## 作者简介



李 鑫, 博士, 高级农艺师, 主要研究方向为植物产品检验检疫检测。  
E-mail: 14826155@qq.com



郑秋月, 博士, 研究员, 主要研究方向为生物安全和食品安全检测技术研发。  
E-mail: zhengqy@dlmu.edu.cn