

小麦赤霉病情与麦粒中 DON 含量关系的分析

冯寅洁¹, 陈 骧², 冯成玉³

(1. 江苏省泰州市产品质量监督检验所, 江苏 泰州 225300;

2. 浙江大学生物技术研究所, 浙江 杭州 310058;

3. 江苏省海安县植保植检站, 江苏 海安 226600)

摘要:为分析小麦赤霉病田间病情、病粒率与麦粒中脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)含量的关系,以感染赤霉病不同病情的小麦样品为材料,用高效液相色谱法(HPLC)检测了麦粒中 DON 的含量。结果表明:麦粒中 DON 含量随田间病情级别或病粒率的提高而增加,呈极显著相关。依据病粒率推算 DON 含量,具有一定的实用性,但在小麦品种间以及不同病情条件下的理论值误差较大。

关键词:小麦赤霉病;高效液相色谱;DON 含量

中图分类号:R 155.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2015)01-0055-03

Analysis of relationship between wheat scab and DON content in grain

FENG Yin-jie¹, CHEN Xiang², FENG Cheng-yu³

(1. Jiangsu Taizhou Products Quality Supervision and Inspection Institute, Taizhou Jiangsu 225300;

2. Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang 310058;

3. Haian Plant Protection and Quarantine Station, Haian Jiangsu 226600)

Abstract: In order to study the relationship between the wheat scab situation, rate of diseased grains and DON content, wheat samples contracted with wheat scab in different degrees were selected to determine DON content in grains by HPLC. The results showed that the DON content in wheat grains increased along with the increasing of field disease severity or the rate of diseased grains, which showed highly significant correlation. It was of certain practicality to calculate the DON content on the basis of the rate of diseased grains. But when it came to different wheat varieties and the disease severity, the theoretical value error was bigger.

Key words: wheat scab; HPLC; DON content

小麦赤霉病是小麦种植过程中受多种镰刀菌(*Fusarium* spp.)感染后引起的世界性真菌病害^[1],染病后的小麦不仅产量和品质下降,而且收获的小麦籽粒中还含有脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)等镰刀菌的有毒代谢物^[2]。由于 DON 毒素性质稳定,一般的食品生产加工过程很难破坏其毒性,进入食物链后,对人和动物的健康造成威胁^[3]。2011 年颁布的国家食品安全标准《食品中真菌毒素限量》中,规定小麦、玉米中 DON

的最高限量为 1 mg/kg^[4],因此, DON 毒素含量成为各级粮食收购部门确定小麦收购的标准之一。但是,由于 DON 检测成本高、过程复杂,在我国各级粮食收购过程中难以得到很好的应用。

为准确判断赤霉病麦粒中 DON 毒素含量,科研人员先后采用气相色谱法(GC)^[5]、薄层色谱分析法(TLC)^[6]、酶联免疫法^[7]等分别研究了小麦赤霉病的病情指数、麦穗病级以及病粒率与 DON 毒素含量的相关性。由于所用的 DON 毒素检测方法不同,不同地区小麦赤霉病菌菌株的产毒能力有差异^[8],不同年度小麦的 DON 污染水平受不同年度小麦赤霉病的流行程度影响较大^[9],因此,研究结果在实

收稿日期:2014-07-16

作者简介:冯寅洁,1986 年出生,女,工程师。

通讯作者:冯成玉,1959 年出生,男,研究员。

际应用中均存在一定的误差。本实验采用高效液相色谱法(HPLC)^[10]测定了大田中小麦赤霉病不同病情级别、不同病粒率小麦中的 DON 含量,旨在明确高效液相色谱法测定 DON 含量的准确性,同时为田间小麦赤霉病的病情调查或在小麦收获后,通过病粒率来判断麦粒中的 DON 毒素含量提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 小麦样品准备

试验用5个小麦品种分别为扬麦13、扬麦15、扬麦16、扬辐麦4号和宁麦13。试验地点位于海安县农林科学研究所病虫观测场内,各品种统一于2011年11月2日人工条播,行距50 cm,每品种1个单行,行长30 m;重复3次,区组内随机排列,除不开展小麦赤霉病的药剂防治外,其它按常规措施进行田间管理。

2012年恰逢当地小麦赤霉病大流行,5月22日于田间病情基本稳定时,在扬麦13品种区行内,选择大小基本一致的麦穗,按病情级别^[11](病小穗数占全穗的1/4以下、1/4~2/4、2/4~3/4、3/4以上分别记为1、2、3、4级,当时未有小穗发病的记为0级)分别标记500穗。小麦成熟后,相同病级标记麦穗以及各播种行小麦品种分别收割,脱粒晒干后备用。其中,扬麦13区行内的标记和非标记麦穗,均分别进行单独收割。

不同小麦品种、不同病情级别处理的备用小麦籽粒,均于脱粒晒干后分别随机取2000粒,调查记载赤霉病病粒数,病粒的判断以麦粒表面出现有明显的病斑痕迹(图1)为准。同时,在扬麦13不同病级麦穗晒干的籽粒中,各取一半籽粒,分别将病粒分拣出来,无明显病状的视为健粒,分别另存,以备检测用。

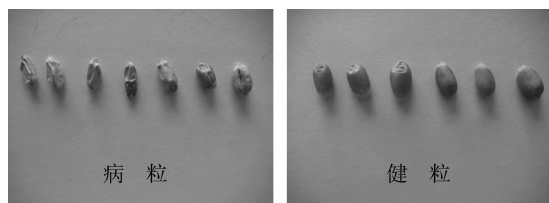


图1 小麦赤霉病病、健粒对比

1.1.2 试剂

脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准品(纯度98%): FERMENTEK Ltd.;乙腈(色谱纯),甲醇(色谱纯)。

1.2 仪器与设备

WH-861旋涡混合器:江苏省太仓市华利达实验设备有限公司;TC-T200呕吐毒素专用净化柱:美国Trilogy公司;MD200氮气吹扫仪:杭州奥盛仪器有限公司;Agilent 1100高效液相色谱仪:美国Agilent公司。

1.3 方法

样品提取:称取2.0 g研磨后样品于50 mL离心管中,加入10 mL的V(乙腈):V(水)=84:16提取液,涡旋1 min置于摇床,以200 r/min旋转频率过夜。

净化:取2 mL上清液到净化柱顶端,向下推活塞,使溶液全部过柱,收集到15 mm×100 mm试管中,取出注射器,加入2×4 mL乙腈/水(84:16)提取液到柱顶端,彻底过柱,收集到同一试管中,放入氮吹仪,在50℃下蒸干,用1 mL流动相定容,过0.22 μm滤膜待测。

色谱条件:Agilent Eclipse XDB-C18分析柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:V(水):V(甲醇):V(乙腈)=92:4:4,紫外检测器波长220 nm,流速1 mL/min,进样量15 μL,柱温30℃。

2 结果与分析

2.1 不同病级麦穗与籽粒中 DON 含量的关系

2.1.1 不同病级麦穗混合籽粒中 DON 的含量

扬麦13小麦田间不同赤霉病病级的混合麦粒,其DON含量随病情级别的提高而增大(表1),呈极显著相关。DON含量(Y_1)与病穗病级(X_1)的回归关系式为 $Y_1 = 3.6373X_1 + 1.5732$,相关系数 $R_1 = 0.9971$ 。因此,可以通过小麦赤霉病田间病情级别的调查来预测麦粒中的DON含量,从而及早估算出小麦麦粒中的DON大体含量水平。检测结果显示,田间调查健穗(0级病穗)中,或因当时田间漏查,或因标记时尚未充分显症,仍发现有少量病粒存在。

2.1.2 不同病级麦穗健粒中 DON 的含量

病穗麦粒中的健粒,也含有一定量的DON,并随病情级别的提高而增大(表1),达到极显著相关。病穗健粒中的DON含量(Y_2)与病穗病级(X_2)的回归关系式为 $Y_2 = 0.788X_2 + 0.6984$,相关系数 $R_2 = 0.9664$ 。当年在田间发病达1级以上的麦穗,其病穗健粒中的DON含量即超过1 mg/kg,病穗病粒中的DON含量高达70 mg/kg以上。

表 1 扬麦 13 小麦不同赤霉病级麦穗麦粒中 DON 含量

项 目	病穗混粒					病穗健粒					病粒
	0 级	I 级	II 级	III 级	IV 级	0 级	I 级	II 级	III 级	IV 级	
病粒率/%	4.60	8.67	16.72	19.45	26.69	0	0	0	0	0	100
DON/(mg/kg)	2.077	4.751	8.684	12.176	16.551	0.623	1.688	1.895	3.518	3.648	74.394

注:病粒均为表现有明显病斑的麦粒,下同。

2.2 不同小麦品种籽粒中 DON 的含量

在其它同等条件下,当年不同小麦品种籽粒中 DON 含量,因发病程度的不同而存在有显著的差异。检测结果表明,扬麦 13、扬麦 15、扬麦 16、扬辐麦 4 号和宁麦 13 混合麦粒中 DON 的含量分别为 4.413 5、8.580 4、9.631 9、11.916 5 和 3.167 4 mg/kg,其赤霉病粒率分别为 7.36%、9.00%、11.22%、11.13% 和 2.66%。

2.3 病粒率与 DON 含量的关系

不同病粒率的麦粒中,DON 的含量随病粒率的增大而增加,相互之间呈极显著相关。由表 1 数据分析,当年扬麦 13 小麦籽粒中的 DON 含量(Y)与赤霉病粒率(X)的回归式为 $Y = 0.6537X - 1.1054$,相关系数 $R = 0.9935$ 。按相关国家粮食卫生标准 $DON \leq 1 \text{ mg/kg}$ ^[4],推算得小麦病粒率的安全控制值为 3.38%,与小麦国家标准^[12]中小麦赤霉病粒最大允许含量为 4.0%的规定较为接近。因此,对特定发病程度和发病条件下某一小麦品种,通过小麦赤霉病粒率的调查,可以判断麦粒中的 DON 含量。

运用以上回归式依病粒率推算 DON 含量,检验扬麦 13 小麦的误差率相对较小,测定值在推算理论值的 95% 置信限范围内;而应用于其它小麦品种时,其误差率相对较大,测定值均在理论值置信限范围以外(表 2)。因此,依据病粒率推算 DON 含量,必须因小麦品种的感病性、病害流行程度而有所区别,病粒率与 DON 含量的某一相关值缺乏普遍适用性。

表 2 DON 测定值和理论值

品种	病粒率 /%	DON 含量/(mg/kg)					误差率 /%
		测定值	理论值	置信限	误差值		
扬麦 13	7.36	4.41	3.70	1.99 - 5.41	0.71		16.10
扬麦 15	9.00	8.58	4.77	3.07 - 6.49	3.81		44.41
扬麦 16	11.22	9.63	6.23	4.53 - 7.94	3.40		35.31
扬辐麦 4 号	11.13	11.92	6.17	4.46 - 7.88	5.75		48.24
宁麦 13	2.66	3.17	0.64	0.00 - 2.34	2.53		79.81

注:置信限为 95% 可信度。

3 结束语

小麦赤霉病情与麦粒中的 DON 含量具有极显著的相关性,DON 的污染程度随病穗病级或病粒率的提高而加重。本实验在前人研究的基础上,检测了江苏苏中地区扬麦 13、扬麦 15、扬麦 16、扬辐麦 4 号和宁麦 13 共 5 个主要小麦品种在小麦赤霉病大

流行年份的病粒率与 DON 含量,分析了扬麦 13 田间不同病级麦穗、病粒率与 DON 含量的关系。为通过田间小麦赤霉病发病程度,或根据小麦收获后的病粒率推算麦粒中的 DON 含量提供了一定的参考依据。

本实验针对扬麦 13 建立的麦穗赤霉病病级和病粒率与 DON 含量的关系式,具有较理想的 DON 含量预测实用价值;但仅适用于当年同等发病条件下的相同小麦品种,对其它不同感病性的小麦品种不适用,这可能与不同小麦品种染病后的生理代谢机制有关^[5],从而影响了麦粒中 DON 含量的变化。因此,欲通过小麦赤霉病的病情调查或在小麦收获后通过病粒率来确定麦粒 DON 毒素的含量,不同小麦品种和不同发病程度必须区别对待。对此,仍需要开展进一步的研究工作。

目前,用于 DON 检测的方法有多种^[13],不同的检测方法各有特点。至于在其它同等条件下,采用不同检测方法后 DON 检测值的变化,仍缺少相关研究。

参考文献:

[1]封薇,刘太国,张敏,等.脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)在小麦籽粒中的积累分析[J].植物病理学报,2012,42(1):25-31.

[2]罗雪云,李玉伟,温世凡,等.赤霉病麦引起的食物中毒及镰刀菌毒素的测定[J].卫生研究,1987,16(4):33-37.

[3]付杨,李洪军,贺稚非,等.脱氧雪腐镰刀菌烯醇研究进展[J].食品科学,2011,32(21):289-292.

[4]GB 2761—2011,食品中真菌毒素限量[S].

[5]陈利锋,宋玉立,徐雍皋.小麦赤霉病穗中脱氧雪腐镰刀菌烯醇量的变化[J].植物病理学报,1996,26(1):25-28.

[6]谢茂昌,王明祖.小麦赤霉病发病程度与 DON 含量的关系[J].植物病理学报,1999,29(1):41-44.

[7]艾兰虹.小麦赤霉病及呕吐毒素的分析检测[J].粮油食品科技,2011,19(5):46-47.

[8]王裕中,J.D.米勒.中国小麦赤霉病菌优势种—禾谷镰刀菌产毒素能力的研究[J].真菌学报,1994,13(3):229-234.

[9]陆刚,李李,薛英.安徽省谷物及制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的污染调查[J].中华预防医学杂志,1994,28(1):27-30.

[10]GB/T 23503-2009,食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法[S].

[11]江苏省植物保护站.农作物主要病虫害预测预报与防治[M].南京:江苏科学技术出版社,2006,3.

[12]GB 1351—2008,小麦[S].

[13]元增军,裴自友,韩航如,等.利用 DONtest-HPLC 检测小麦镰刀菌毒素 DON 含量的差异[J].南京农业大学学报,2005,28(3):6-10.