

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20120319001

胡新华, 辛利华, 孙立伟, 等. 低温弱光条件下毒死蜱对黄瓜的毒性效应及油菜素内酯的调控作用[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(4): 513-520

Hu X H, Xin L H, Sun L W, et al. Toxic Effects of Chlorpyrifos on Cucumber and Brassinosteroid-Mediated Responses under the Conditions of Chilling Temperature and Low Light [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(4): 513-520 (in Chinese)

低温弱光条件下毒死蜱对黄瓜的毒性及油菜素内酯的调控作用

胡新华, 辛利华, 孙立伟*, 傅正伟

浙江工业大学生物与环境工程学院, 杭州 310032

摘要: 农药在使用中可能对农作物产生药害作用,而在低温弱光的亚适宜条件下,设施作物对农药暴露的应激响应可能具有特殊性。同时,作为一种新型植物激素,油菜素内酯在亚适宜条件下是否能够缓解农药的药害作用的研究有限。以典型的设施作物黄瓜为受试生物,通过人工气候箱模拟低温弱光的亚适宜条件,在毒死蜱(浓度分别为 0.3 和 1 mmol·L⁻¹)暴露 1、3 和 7 d 后,以实时荧光定量 PCR 对黄瓜叶片中光合作用基因(*psaB*、*psbA* 和 *rbcL*)、抗氧化系统相关基因(*cAPX*、*DHAR*、*GR*、*CAT* 和 *GPX*)、防御和应激相关基因(*PAL*、*HPL*、*ADC* 和 *HSP70*)的转录水平进行检测,阐明其毒性效应。并对比 24-表油菜素内酯的预处理组,探讨油菜素内酯如何调控作物对农药胁迫的响应。结果表明,在低温弱光条件下,毒死蜱暴露抑制了黄瓜叶片中上述大部分基因的转录,而 24-表油菜素内酯预处理后其转录水平显著上升,表明 24-表油菜素内酯可有效且持续地缓解毒死蜱的药害效应。

关键词: 亚适宜条件; 农药; 药害; 基因转录; 抗逆性

文章编号: 1673-5897(2013)4-513-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Toxic Effects of Chlorpyrifos on Cucumber and Brassinosteroid-Mediated Responses under the Conditions of Chilling Temperature and Low Light

Hu Xinhua, Xin Lihua, Sun Liwei*, Fu Zhengwei

College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China

Received 19 March 2012 accepted 5 June 2012

Abstract: Many pesticides probably have phytotoxicity on exposed plants. However, there is little available information regarding the stress response of crops to pesticides in the greenhouse under suboptimal condition with chilling temperature and low light. Brassinosteroids are one of new type of plant hormones, while their mitigation the toxicity of pesticide on crops under the suboptimal condition remain unclear. In this study, the transcriptional responses to chlorpyrifos in the leaves of cucumber (*Cucumis sativus*), was studied under the condition of the chilling temperature and low light in the artificial climate incubators. Cucumber was treated with chlorpyrifos at two concentrations (0.3 and 1.0 mmol·L⁻¹) and the leaves were

收稿日期: 2012-03-19 录用日期: 2012-06-05

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 973 计划课题(2009CB119006)

作者简介: 胡新华(1986-), 男, 硕士生, 研究方向为毒理学, E-mail: deusrwaf@163.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: sunliwei@zjut.edu.cn

sample after 1, 3 and 7 days of exposure. In order to reveal whether the brassinosteroid can alleviate the phytotoxicity, cucumber was pretreated with 24-epibrassinolide 24 h before chlorpyrifos-exposure. The transcriptional level of genes involved in photosynthesis (*psaB*, *psbA* and *rbcL*), protection against oxidative stress (*cAPX*, *DHAR*, *GR*, *CAT* and *GPX*), defense (*PAL*, *HPL* and *ADC*) and heat shock (*HSP70*) were determined using quantitative real-time PCR. The results showed that chlorpyrifos treatment significantly reduced the transcriptional level for most genes under the condition of the chilling temperature and low light. While the transcriptions were induced after 24-epibrassinolide pretreatment, demonstrating that the brassinosteroid could protect crops against the phytotoxicity of pesticides effectively and persistently.

Keywords: suboptimal condition; pesticide; phytotoxicity; gene transcription; stress tolerance

化学农药,特别是有机合成农药的应用在防治病虫害,保障农业生产中发挥了重要的作用,为现代农业的发展做出了巨大的贡献^[1]。大多数现代农药都是按照靶标生物的生理生化特点合理设计的,但近年来,农药对于非靶标生物的毒害作用日益引起人们的关注。对于农作物而言,农药的不当使用将造成药害作用,主要表现为抑制作物生长、影响生殖器官发育、改变碳/氮代谢的平衡等^[2]。然而,经过长期的进化,植物体本身已具有了一套复杂的解毒机制,能够应对包括农药在内的多种外源化学物质。目前,相关的研究主要集中在除草剂^[3],而对于杀虫剂、杀菌剂等其他农药的药害作用以及作物相应的解毒机制,我们的了解相对有限。

除了农药所导致的药害作用之外,作物也会因遭受多种生物或非生物因子的胁迫而导致产量下降。冷害是限制许多作物产量和地理分布的主要非生物胁迫因子^[4]。研究认为,对于一些热带和亚热带作物,冷害将首先导致光合作用的抑制,引起脂质过氧化、干扰水平衡和碳水化合物的累积^[5]。在我国,由于条件所限,喜温蔬菜大多在非加温设施中生长。在冬春季节,天气晴好时室内温度较高,而多云或阴雨天则温度普遍较低且光照不足。低温弱光的亚适宜条件成为限制我国农业生产的严重问题^[6]。而同时,集约化的设施条件下病虫害高发频发,导致农药大量使用。因此,了解低温弱光条件下农药的药害作用对于我国农业生产具有一定的现实意义。

油菜素内酯作为一类新型的植物甾醇类激素,受到人们的广泛重视。在农业应用中,大部分为24-表油菜素内酯(EBR)。大量的研究表明,油菜素内酯预处理不但能够提高作物对低温、干旱、盐害等各种环境胁迫以及病虫害的抗性^[7-8],而且能有效降低除草剂的伤害^[9],而对于其缓解农药的药害作用

是否具有普遍性则还需要深入研究。因此,将以我国冬春季节重要的温室栽培作物黄瓜为研究对象,通过检测叶片中光合作用、抗氧化、防御等多个生理过程相关的基因,研究低温弱光的亚适宜条件下杀虫剂毒死蜱施用后非靶标农作物黄瓜的应激响应特征,并对比 EBR 预处理,探讨油菜素内酯是否可以缓解农药的毒害作用,从而为解决设施条件下农药施用的生态安全问题提供依据。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 化学试剂

毒死蜱(CAS: 2921-88-2, 48%乳油,江苏益农农化)。24-表油菜素内酯(CAS: 78821-43-9, 纯度90%, Sigma)。

1.2 实验处理

黄瓜(*Cucumis sativus* L. cv. 津优30)购于天津科优黄瓜研究所。将种子播种于蛭石和珍珠岩(3:1)的混合基质中,置于人工气候箱中培养,培养条件设定为光周期 12 h:12 h,温度为 25 °C/17 °C(昼/夜),光照为 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,相对湿度为 75%。当子叶充分展开后移入 Hoagland 营养液中,待四叶一心期进行以下的实验处理。

将人工气候箱培养条件改为 10 °C/5 °C(昼/夜),光照为 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,其余同上。将受试黄瓜平均分为两大组,其中一组以 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EBR 浸没处理(10 s),另一组仅以纯净水处理。一天之后,将每个大组再均分为 3 个小组,并分别暴露于不同浓度的毒死蜱(0、0.3、1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。在毒死蜱暴露 1、3 以及 7 d 后,取黄瓜第 4 片叶,-80 °C 保存备用。每个处理至少 4 个平行。

1.3 实时定量 PCR

按照 Trizol(Takara, 日本)的厂家使用说明,提取黄瓜叶片总 RNA。测定 RNA 的纯度和浓度后,进行 cDNA 第 1 链的合成(ReverTra Ace qPCR RT

kit, Toyobo)。实时定量 PCR 所用的仪器为 Mastercycler ep realplex (Eppendorf), 并使用 SYBR[®] Green 荧光定量 PCR 试剂盒 (SYBR[®] Green Real-time PCR Master Mix, Toyobo)。PCR 反应条件为 95 °C、3 min; 95 °C、15 s, 60 °C、1 min, 40 个循环。检测的目的基因涉及多个生理生化过程, 包括

光合作用 (*psaB*、*psbA* 和 *rbcL*), 抗氧化 (*cAPX*、*DHAR*、*GR*、*CAT* 和 *GPX*), 防御和应激 (*PAL*、*HPL*、*ADC* 和 *HSP70*), 其特异性引物序列如表 1 所示。其中 *ADC*、*DHAR*、*GR*、*psaB*、*psbA* 和 *rbcL* 等基因的引物为自行设计, 其他则参考 Xia 等的论文^[10]。相对表达量以管家基因 β -*actin* 进行校正。

表 1 目的基因 RT-PCR 引物序列

Table 1 Sequences of primers used for quantifying target genes by quantitative RT-PCR

基因	检索号	引物序列 (5'-3')	
β -actin	AAZ74666	F: TGGACTCTGGTGATGGTGTTA	R: CAATGAGGGATGGCTGGAAAA
<i>ADC</i>	AY274822	F: GTGATGCAGCAGGAGCCCGA	R: CGGCATCGCCAGCACCAGAA
<i>cAPX</i>	D88649	F: TGGGAAAGTGCTACCTGTT	R: ACAATGTCTGGTCCGAAAG
<i>CAT</i>	AY274258	F: ATGCTGGAAGAGGAGGCTAT	R: ATGGTGAGGACATTTGGGAG
<i>DHAR</i>	EF468515	F: ACGGTACTGAGCAGGCTCTCCT	R: GAGCCCACCCTGCGATGACG
<i>HSP70</i>	AJ249329	F: GTTATTGGGATAGATTTG	R: GAAGGTGTGATACGGTTT
<i>HPL</i>	AF229811	F: CTCCTTTCTCGCTTCTCACC	R: TCAAACGACACGGCATCACT
<i>GPX</i>	FJ036896	F: GTCAAGGATGCTAAAGG	R: TTGTCAAAAATGGGGTA
<i>GR</i>	EF530128	F: TGCAACTGGCAGTAGAGCTGTCA	R: TCCTCCAAGCACCACAACACGC
<i>PAL</i>	AF475285	F: ACGGTTTGCCTTCTAAT	R: CATCCTGGTTGTGTTGTC
<i>psaB</i>	GI:67511397	F: CAAGCGGCCCGCGTTCAAT	R: TCCCGGACCGTCGCAAGGAA
<i>psbA</i>	GI:67511378	F: CCGTCTGGGTATGCGTCCTTGG	R: AGGGAGCCGCCGAATACACCA
<i>rbcL</i>	GI:67511406	F: CTGCCAGTGGCTTCCGGTGG	R: TGCCCCAAAGTTCTCCGCC

1.4 统计分析

基因的相对表达量用平均数 ± 标准误 (mean ± SEM) 来表示。组间差异分析通过单因素方差分析 (ANOVA) 并以 Dunnett's 检验进行多重比较。设 P 值 < 0.05 时有统计学差异。

2 结果 (Results)

2.1 光合作用相关基因的转录水平变化

研究中所检测的 3 个光合作用相关基因 *psaB*、*psbA* 和 *rbcL* 分别编码光合系统 I, 光合系统 II 以及 CO₂ 固定中的关键酶^[11]。从图 1 中可以看出, 在低温弱光的亚适宜条件下, 水处理组的黄瓜在经毒死蜥暴露后可导致叶片中光合作用基因 *psaB*、*psbA* 和 *rbcL* 的转录水平下降, 并在处理 3 d 后和毒死蜥未暴露组 (对照组) 相比有显著差异。而在经过 EBR 预处理后, 对比 2 个毒死蜥未暴露组的结果可以发现, EBR 可以显著提高 3 个基因的转录水平, 且这种趋势在暴露后第 7 天 (即 EBR 预处理后第 8 天) 的黄瓜叶片样品中仍然存在。同时可以看出, 虽然 EBR 预处理后毒死蜥暴露依然可降低光合作用基因的转录水平, 但和未经 EBR 预处理的毒死蜥同浓度暴露组的黄瓜样品相比, 其转录水平显著上升。

2.2 抗氧化系统相关基因的转录水平变化

研究表明, 植物中抗坏血酸-谷胱甘肽 (AsA-

GSH) 循环可以有效防止 H₂O₂ 的累积^[12]。本研究考察了 AsA-GSH 循环中涉及的 3 个基因 *cAPX*、*DHAR* 和 *GR*。从图 2 中可以看出, 毒死蜥暴露后 3 个基因转录水平呈现不同的变化趋势。毒死蜥暴露对 *cAPX* 无显著影响; 但对于 *DHAR* 而言, 无论有无经 EBR 预处理, 毒死蜥暴露后第 3 天其转录水平平均发现有显著降低, 而在第 7 天恢复到与对照 (毒死蜥未暴露组) 无差异; 而对于 *GR*, 研究发现在 EBR 预处理组, 毒死蜥暴露将诱导其转录水平升高。同时, 对比水处理组相同浓度毒死蜥暴露后的样品可以发现, EBR 预处理后可提高以上 3 个基因的转录水平, 尤其是在第 7 天的处理组中。

CAT 和 *GPX* 基因所编码的抗氧化酶均可将 H₂O₂ 还原为 H₂O, *GPX* 还可以还原脂质过氧化物为相应的醇, 均在抗氧化系统中起到重要作用^[12]。对于 *CAT*, 仅发现在水处理组毒死蜥最高浓度 (1.0 mmol·L⁻¹) 暴露 7 d 后显著降低转录水平; 而 EBR 预处理后, 对比水处理组相同浓度毒死蜥暴露后的样品可以发现, 虽然第 3 天的样品中发现抑制转录, 但在第 7 天的样品中其转录水平显著上升。而对于 *GPX*, 发现毒死蜥暴露可以抑制其转录, 但仅在第 7 天的样品中显著降低; 而 EBR 预处理可以提高 *GPX* 的转录水平, 但仅在第 3 天的样品中发现与水处理组相比较有显著差异。

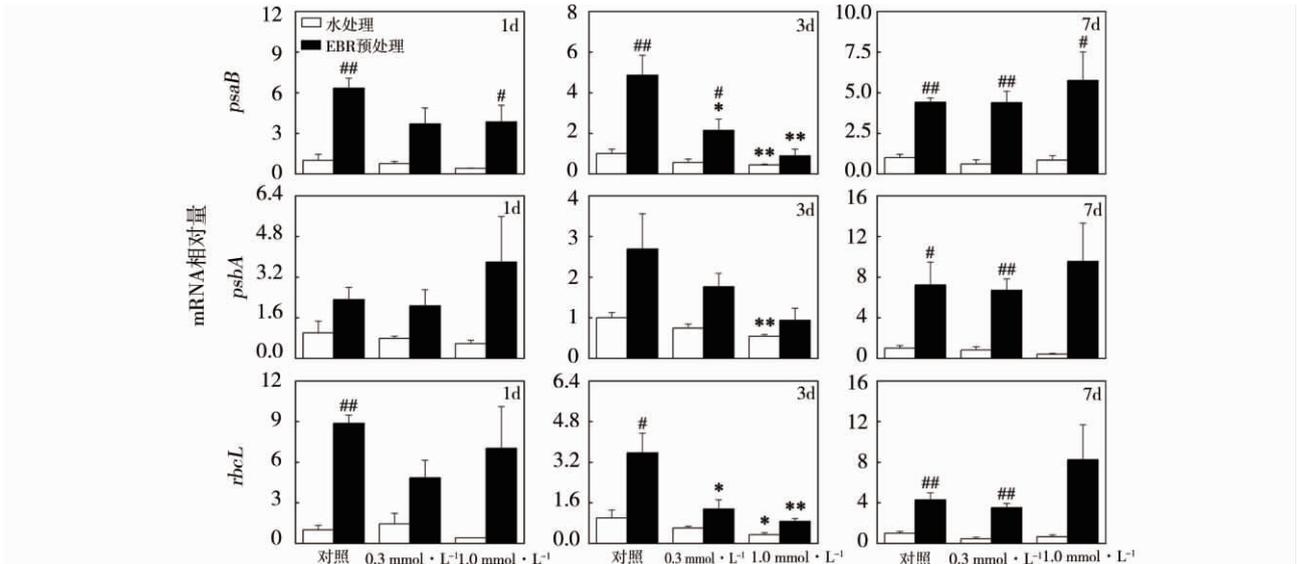


图 1 黄瓜叶片中光合系统相关基因在毒死蜱暴露及 EBR 预处理后的转录水平

注: * 表示在水处理或 EBR 预处理组内, 毒死蜱暴露组和对照组间存在显著差异 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$);

表示在相同的毒死蜱暴露浓度下, EBR 预处理组和水处理组间存在显著差异 (# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$); 下同。

Fig. 1 Transcript level of the photosynthesis genes in cucumber leaves after chlorpyrifos exposure and 24-epibrassinolide pretreatment

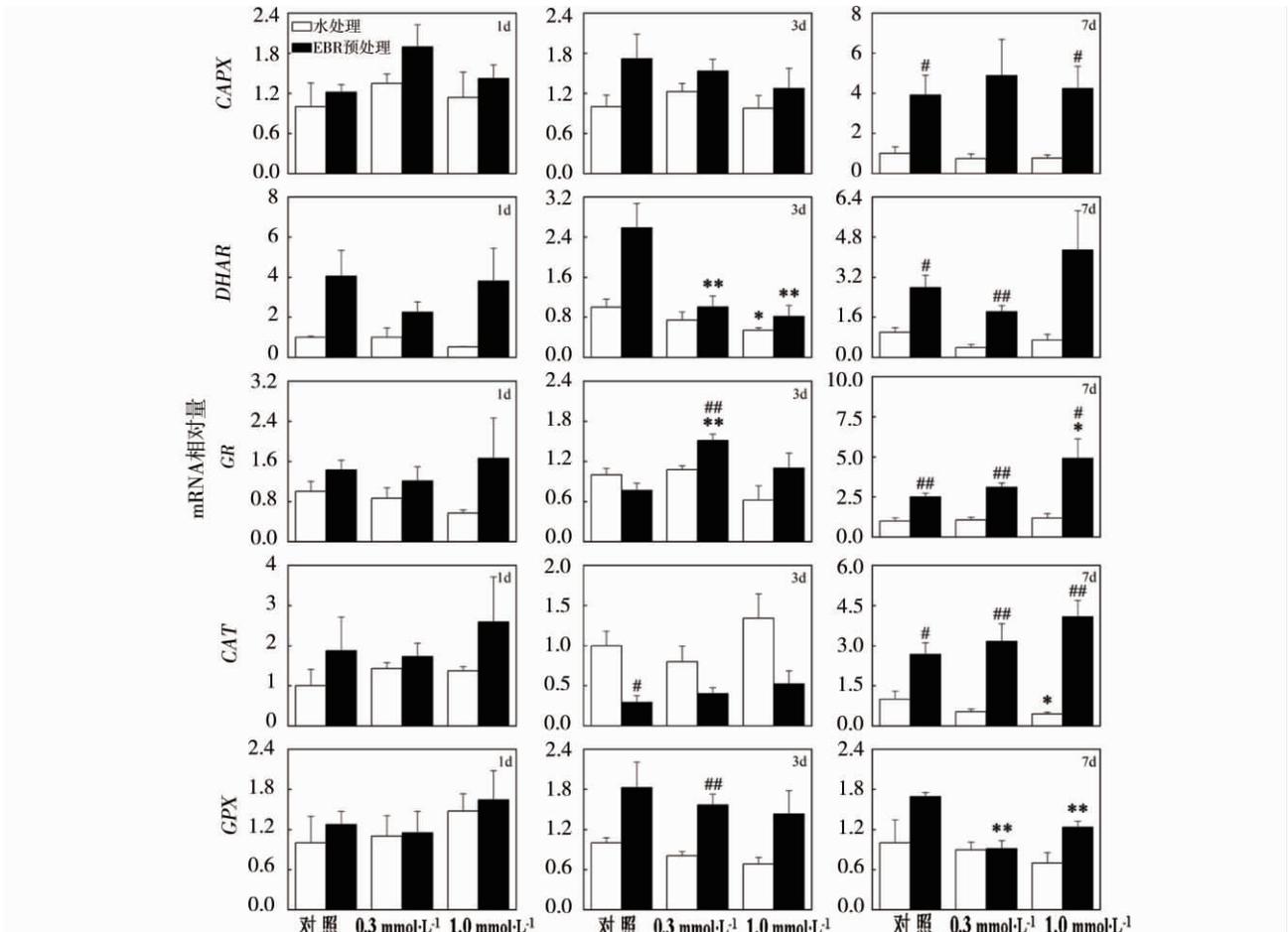


图 2 黄瓜叶片中抗氧化系统相关基因在毒死蜱暴露及 EBR 预处理后的转录水平

Fig. 2 Transcript level of the antioxidant genes in cucumber leaves after chlorpyrifos exposure and 24-epibrassinolide pretreatment

2.3 防御和应激相关基因的转录水平变化

在植物中,苯丙氨酸途径可合成多种在植物防御中起重要作用的次级代谢产物的相应前体,而 *PAL* 编码的苯丙氨酸解氨酶则催化此途径中第 1 步反应^[13]。*HPL* 基因所编码的脂肪酸过氧化物裂解酶与植物中的脂氧合酶 *LOX* 途径相关,而 *LOX* 途径则在调节植物生长发育、信号传递和抗病虫等方面有重要作用^[14]。*ADC* 编码的精氨酸脱羧酶以及其他与多胺合成相关基因的过表达可引起多胺类的积累,从而有助于提高植物对多种逆境的抗性^[15]。*HSP70* 编码的蛋白主要起到分子伴侣的作用,参与蛋白质的折叠、转运及组装等过程,能恢复

或加速清除细胞内已变性的蛋白质而稳定细胞结构,提高机体的适应能力^[16]。4 个基因均和植物的防御或应激相关。从图 3 中可以看出,4 个基因在毒死蜱暴露和 EBR 预处理后,虽然在转录水平变化的动态过程存在差异,但其对毒死蜱和 EBR 的响应类似。毒死蜱暴露可以抑制以上 4 个基因的转录,比如 *PAL* 在第 3 天,*HPL* 在第 7 天,*ADC* 在 3 个取样时间点,以及 *HSP70* 在第 3 天,其转录水平和各自对照组相比显著下降。与水处理组相比,在不同浓度的毒死蜱暴露组均发现 EBR 预处理可以显著提高以上 4 个基因的转录水平。

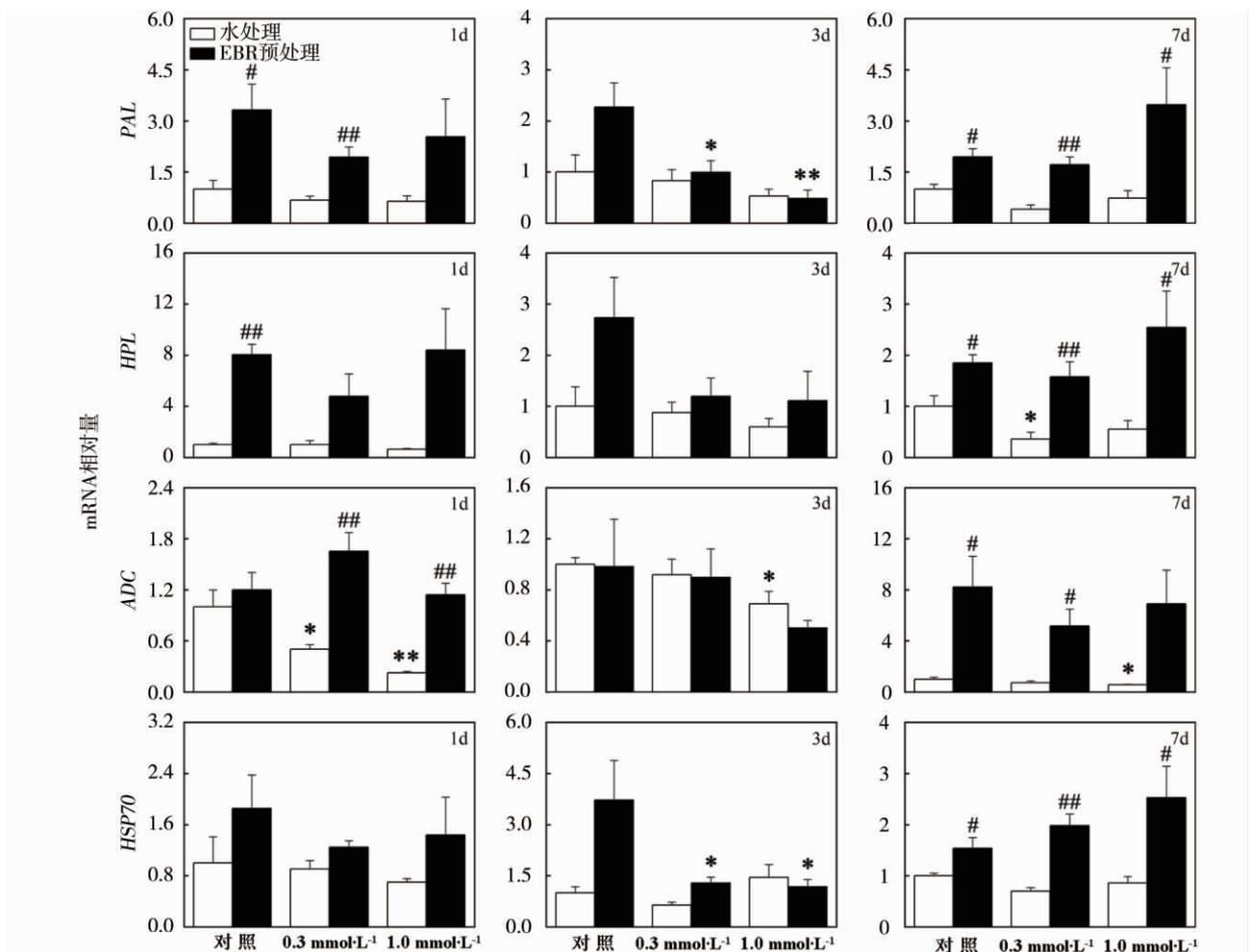


图 3 黄瓜叶片中防御及应激相关基因在毒死蜱暴露及 EBR 预处理后的转录水平

Fig. 3 Transcript level of the defense and response genes in cucumber leaves after chlorpyrifos exposure and 24-epibrassinolide pretreatment

3 讨论 (Discussion)

在农业生产中,了解农药对作物的药害作用有

利于指导农药的安全使用。考虑到我国冬春季节设施园艺中经常遭受的低温弱光,设施作物在此亚适

宜条件下对农药暴露的应激响应可能具有特殊性。毒死蜱属于乙酰胆碱酯酶抑制剂,是农业上应用最广泛的有机磷杀虫剂之一,因而研究其对于非靶标农作物的药害作用具有一定的现实意义。本论文通过检测黄瓜叶片中多个生理过程相关基因的 mRNA 水平变化,在转录层面研究了毒死蜱的药害作用。同时,为了确认油菜素内酯在提高植物抗逆性方面是否具有普通性,本论文还对黄瓜样品进行 EBR 预处理,以探讨油菜素内酯能否在低温弱光的亚适宜条件下缓解农药的药害作用,从而为降低农药的生态风险提供新的思路。

研究发现,在低温弱光下,无论是否经过 EBR 预处理,毒死蜱暴露均导致黄瓜叶片中光合作用基因转录水平有不同程度的下降(见图 1),尤其在暴露后第 3 天, mRNA 水平与对照相比差异显著,并呈现浓度依赖性。光合作用基因 *psaB* 和 *psbA* 转录水平的下调,可能导致相应酶含量的减少,从而阻碍 PSI 和 PSII 中正常的电子传递,并干扰多个代谢途径,比如碳同化。在本研究中,我们也发现了编码 CO₂ 固定中关键酶的基因 *rbcL* 转录水平的下降。事实上,毒死蜱对黄瓜光合机构的毒害作用已有报道,包括改变其叶绿素荧光参数、抑制光合电子传递以及 CO₂ 同化等^[17],而本文的研究则证实了在低温弱光的条件下,毒死蜱可通过抑制光合作用相关基因的转录而产生毒害效应。同时,从结果中可以看出,在毒死蜱处理 7 d 的样品中,3 个光合作用基因的转录水平均恢复到与对照组无差异,表明毒死蜱对光合作用的毒性不是持久性的。之前的报道也观察到类似的现象,而这可能是由于诸如挥发、降解或者黄瓜本身的解毒作用等各种生物或非生物过程所引起的^[17]。

多个证据表明,不同胁迫作用于植物细胞时都可产生活性氧(ROS),后者可使生物膜过氧化,引起细胞器的功能损害以及生物大分子的降解和失活,最终导致细胞凋亡。为了保护细胞免受 ROS 所形成的氧化胁迫,植物体发展出一套完整的抗氧化系统。为了评价毒死蜱的药害作用,本研究对抗氧化系统中若干个重要基因进行了研究。结果发现,低温弱光下毒死蜱暴露可以改变上述基因的转录水平(见图 2)。之前的研究也表明,毒死蜱暴露可导致作物叶片的氧化胁迫^[17]。Untiedt 和 Blanke^[18] 研究发现,杀虫剂与杀菌剂混合处理导致光合电子传递与光合磷酸化解偶联。这种情况下,假环式电子传递的运行会导致 ROS 的大量产生^[19]。而氧化胁迫

生成的 ROS,可能是造成光合机构破坏,并影响 *psaB*、*psbA* 和 *rbcL* 转录的原因之一。一般认为 ROS 的大量产生将诱使植物体内抗氧化基因的转录水平升高,激活 ROS 清除系统^[17]。但在本研究中,所考查的几个基因其转录水平在毒死蜱暴露后大多变化不显著或者有所下降。这可能意味着低温弱光抑制了作物抗氧化系统的有效启动,从而表明亚适宜条件下作物对农药暴露应激响应的特殊性。同时,不同的抗氧化基因对毒死蜱暴露的响应及其转录水平在 7 d 间的动态变化过程也有明显差异。类似的,研究人员也在番茄中发现不同的抗氧化基因对于同一农药的胁迫会呈现不同的应激响应^[20]。抗氧化基因的转录水平变化趋势以及之间的差异,可能恰恰反映了作物对农药暴露的适应过程以及不同抗氧化组分在作物应对药害时所具有的不同功能。

植物防御或应激相关基因 *PAL*、*HPL*、*ADC* 以及 *HSP70* 的转录水平提高一般有助于植物应对各种胁迫。比如,许多的研究都表明,多种环境胁迫因子,比如病菌感染、养分枯竭、紫外辐射、极端温度等,均会诱使 *PAL* 基因的表达^[13]。类似的,可使 *ADC* 高表达的转基因水稻能提高植株对盐胁迫的抗性^[15]。而对于热激蛋白 *HSP*,热刺激并非是诱导其表达的唯一因素,其他多种胁迫因子也是 *HSP* 表达的诱因,而过表达 *HSP* 可以增加植物的抗逆能力^[21]。而本研究则发现,低温弱光条件下,毒死蜱暴露可以导致上述基因的转录水平降低(见图 3)。这可能表明,毒死蜱不但可通过诱导 ROS 生成等对作物产生直接的毒害作用,并且可以抑制多种抗胁迫基因的转录水平而降低作物抗逆反应,最终表现出多方面的药害效应。

同时,我们的研究也发现,作物在经过 EBR 预处理之后,不论是否再进行毒死蜱暴露,所考查的基因转录水平大多表现出显著的上升。如前所述,光合作用相关基因的转录水平升高可能意味着植物光合作用效率的提高,而抗氧化、防御或应激相关基因的转录水平升高则意味着植物对环境胁迫的响应及自我保护。对比 2 个毒死蜱未暴露组的研究结果,发现油菜素内酯预处理可能有助于黄瓜适应低温弱光的亚适宜条件。之前的研究也发现油菜素内酯可有效诱导植物对低温等胁迫的抗性^[9]。在另一方面,由于毒死蜱暴露后上述基因的转录水平呈现下降趋势,表现出一定的药害效应,而在 EBR 预处理后,对比水处理组相同浓度毒死蜱暴露后的黄瓜样

品,可以发现多数基因的转录上调,因此,EBR 可能具有一定的缓解毒死蜱药害作用的能力。而实验过程中观察黄瓜的生长状况也发现,EBR 预处理能显著改善毒死蜱暴露所导致的叶片皱缩、失水萎蔫等不良症状。之前的报道也指出油菜素内酯能显著提高黄瓜对农药的抗性^[22],而这也在其他作物上得到证实^[23]。而我们的研究则更进一步表明,即便在低温弱光的亚适宜条件下,油菜素内酯也可能具有提高作物对农药抗性的作用。Xia 等^[10]认为,油菜素内酯是通过 H₂O₂ 途径引发 MAPK 级联反应,增强转录因子和热激蛋白的表达,从而诱导一系列抗逆、抗氧化基因等的表达,最终提高植物对农药暴露的抗性。而对农药代谢过程的研究则表明,油菜素内酯也将显著提高农药氧化修饰、代谢中间体耦合、代谢终产物运输等过程相关的基因表达和酶活力,从而加速农药的降解。对于除草剂、杀虫剂、杀菌剂等不同农药的研究结果表明油菜素内酯对农药降解的效果具有广谱性^[17, 20]。此外,我们的研究也发现即便在 EBR 预处理 8 d 后(即毒死蜱暴露 7 d 后),多数基因的转录水平仍然显著高于 EBR 未处理组,表明油菜素内酯缓解毒死蜱等农药的药害作用是持续性的。需要指出的是,到目前为止,没有证据表明油菜素内酯对人体有任何毒副作用,并有研究发现,油菜素内酯在毫摩尔级浓度的水平上可以抑制癌细胞的生长,且不影响正常人体细胞^[24],而这个浓度远高于本研究中 EBR 的处理浓度(0.1 μmol·L⁻¹)。因此,油菜素内酯的合理施用可能为缓解农药的药害作用,提高作物的广谱抗逆性,以及减少农药的环境污染提供新的手段。

综上所述,在低温弱光的亚适宜条件下,毒死蜱可以抑制黄瓜叶片中光合作用、抗氧化、防御和应激等生理过程相关基因的转录水平,表现出一定的药害作用。同时,黄瓜在亚适宜条件下对毒死蜱暴露的响应具有特殊性。而 EBR 预处理后,所考查的基因转录水平大多表现出显著的上升,证实油菜素内酯可能能够有效且持续地缓解毒死蜱的药害作用,表明其在降低农药污染风险、促进农业可持续发展方面具有广阔的前景。

通讯作者简介:孙立伟(1980—),男,环境科学博士,副教授,硕士生导师,主要研究方向为生态毒理学,已发表论文 40 余篇。

参考文献:

[1] Carvalho F P. Agriculture, pesticides, food security

and food safety [J]. Environmental Science & Policy, 2006, 9(7-8): 685—692

- [2] Saladin G, Clement C. Physiological effects of pesticides on cultivated crops [M]// Livingston J V (Ed). Agriculture and Soil Pollution: New Research. Hauppauge: Nova Science Publisher, 2005: 53—86
- [3] Verkleij J A C, Golan-Goldhirsh A, Antosiewicz D M, et al. Dualities in plant tolerance to pollutants and their uptake and translocation to the upper plant parts [J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 67(1): 10—22
- [4] Allen D J, Ort D R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(1): 36—42
- [5] Zhou Y H, Yu J Q, Huang L F, et al. The relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport and water-water cycle in chill-exposed cucumber leaves under low light and subsequent recovery [J]. Plant Cell and Environment, 2004, 27(12): 1503—1514
- [6] Yu J Q, Zhou Y H, Huang L F, et al. Chill-induced inhibition of photosynthesis: Genotypic variation within *Cucumis sativus* [J]. Plant and Cell Physiology, 2002, 43(10): 1182—1188
- [7] Khripach V, Zhabinskii V, De Groot A. Twenty years of brassinosteroids: Steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century [J]. Annals of Botany, 2000, 86(3): 441—447
- [8] Kagale S, Divi U K, Krochko J E, et al. Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses [J]. Planta, 2007, 225(2): 353—364
- [9] Krishna P. Brassinosteroid-mediated stress responses [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2003, 22(4): 289—297
- [10] Xia X J, Wang Y J, Zhou Y H, et al. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber [J]. Plant Physiology, 2009, 150(2): 801—814
- [11] Qian H F, Li J J, Pan X J, et al. Photoperiod and temperature influence cadmium's effects on photosynthesis-related gene transcription in *Chlorella vulgaris* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2010, 73(6): 1202—1206
- [12] Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, et al. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372): 1305—1319
- [13] Huang J L, Gu M, Lai Z B, et al. Functional analysis of the *Arabidopsis* PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress [J]. Plant Physiology, 2010, 153(4): 1526—1538
- [14] Porta H, Rocha-Sosa M. Plant lipoxygenases. Physiological and molecular features [J]. Plant Physiol-

- gy, 2002, 130(1): 15-21
- [15] Roy M, Wu R. Arginine decarboxylase transgene expression and analysis of environmental stress tolerance in transgenic rice [J]. *Plant Science*, 2001, 160(5): 869-875
- [16] Li Q B, Haskell D W, Guy C L. Coordinate and non-coordinate expression of the stress 70 family and other molecular chaperones at high and low temperature in spinach and tomato [J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 39(1): 21-34
- [17] Xia X J, Zhang Y, Wu J X, et al. Brassinosteroids promote metabolism of pesticides in cucumber [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(18): 8406-8413
- [18] Untiedt R, Blanke M M. Effects of fungicide and insecticide mixtures on apple tree canopy photosynthesis, dark respiration and carbon economy [J]. *Crop Protection*, 2004, 23(10): 1001-1006
- [19] Asada K. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 2000, 355(1402): 1419-1430
- [20] 汪季涛. 油菜素内酯调控番茄农药降解的生理与分子机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2010: 28-44
- Wang J T. Physiological and molecular mechanisms of brassinosteroids-regulated pesticide degradation in tomato [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010: 28-44 (in Chinese)
- [21] 邹杰, 陈信波, 刘爱玲, 等. 植物热激蛋白与作物非生物抗逆性的改良[J]. *植物生理学通讯*, 2007, 43(5): 981-985
- Zou J, Chen X B, Liu A L, et al. Plant heat shock proteins and crops abiotic stress tolerance improvement [J]. *Plant Physiology Communications*, 2007, 43(5): 981-985 (in Chinese)
- [22] Xia X J, Huang Y Y, Wang L, et al. Pesticides-induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2006, 86(1): 42-48
- [23] Bajguz A, Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, 47(1): 1-8
- [24] Malikova J, Swaczynova J, Kolar Z, et al. Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(2): 418-426

纳米材料分类是风险评估不可或缺的一环

2013年6月13日 来源: 纳米毒理学

据欧盟的纳米安全集群(该组织联合了欧盟资助的纳米项目)的工作小组称,目前纳米材料的人类健康和环境危险评估工作的第一步也是最重要的一步就是找到纳米材料的分类办法。该工作小组在报告中提出了纳米材料的未来毒性实验战略建议。

欧盟启动的纳米安全集群计划旨在帮助公众在纳米毒理学方面达成共识并为未来的纳米材料风险评估程序研究工作确定关键领域。德国巴斯夫化学公司的短期毒理学部门的负责人 Robert Landsiedel(他也是第10个工作小组报告的主要作者)解释称,该项目也是在为2020年的地平线研究计划指引方向。

报告指出,到目前为止,基于材料特性的分类工作仅获得了"部分成功",目前并未发现单一材料的特性与观察到的生物效应完全相关。因此,工作小组建议既然分类已经成为了实验策略的核心内容,所以科学家首先需要根据现有的数据和因素(比如材料性质、体内残留性和最终结果)来定义和验证分类标准。

工作小组建议采用一种多层次的方法来评估纳米材料。第一层次为确定关注的纳米材料,第二层则是展开四大毒理学领域(即生物运动学;接触部位的局部效应;基因毒性和短期毒性)的"基本"实验。而第三层则是根据二层的要求进行"具体"实验。

他说工作小组的研究建议将会被纳入未来欧盟提出的研究项目议案之中。这些建议也被纳入了目前正在进行的纳米材料研究项目(例如 NanoReg)之中。

该报告发表在《纳米毒理学》上。

引自《化学品安全信息周报》2013年第25期总第237期(中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所编译)
[http://www.chinachemicals.org.cn/reported_detail.aspx?contentid=253&ClassID=229\(2013-06-26\)](http://www.chinachemicals.org.cn/reported_detail.aspx?contentid=253&ClassID=229(2013-06-26))