

三唑类杀菌剂在水稻中的富集转移及暴露危害

岳远浩¹, 冯发运², 程江峰^{1*}, 余向阳^{2*}

(1. 青岛科技大学, 山东 青岛 266061; 2. 江苏省农业科学院, 南京 210014)

摘要: 研究三唑酮与氟环唑在苗期水稻中富集和转移规律以及对水稻幼苗生长发育的影响。结果表明: 三唑酮更容易在水稻植株中转移, 氟环唑在水稻根部更容易富集。三唑酮对水稻生长有低促高抑的现象, 氟环唑对水稻生长的抑制作用与药剂处理浓度具有正相关性。与对照相比, 低浓度三唑酮处理诱导植株 H_2O_2 含量降低 21.9%, SOD 活力降低 11.9%; 高浓度三唑酮处理导致水稻幼苗 H_2O_2 含量升高 9.9%, SOD 活力升高 18.3%。高浓度氟环唑处理诱导植株 MDA 含量与 SOD 活力分别升高 18.6% 和 37.0%。本研究揭示了三唑酮与氟环唑在水稻中的富集转移规律及残留暴露风险, 为三唑类杀菌剂在水稻栽培过程中的合理施用提供了参考依据。

关键词: 三唑酮; 氟环唑; 水稻; 富集和转移; 生理生化指标

中图分类号: S511

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2025)01-0025-06

Accumulation Transfer and Exposure Harm of Triazole Fungicides in Rice

YUE Yuanhao¹, FENG Fayun², CHENG Jiangfeng^{1*}, YU Xiangyang^{2*}

(1. Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266061; 2. Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Accumulation and transfer of triadimefon and epoxiconazole in rice seedlings were studied, and the effects of these two fungicides on the growth and development of rice seedlings were also investigated. The results showed that triadimefon was easy to transfer in rice plants, while epoxiconazole was mostly accumulated in rice roots. Triadimefon could promote and inhibit the rice growth at the low and high concentrations, respectively. However, the inhibitory effect of epoxiconazole on rice growth was positively correlated with the contaminated concentrations. Compared to the control, H_2O_2 content and SOD activity of plants at the low concentration treatment of triadimefon were reduced the 21.9% and 11.9%, respectively. Whereas, H_2O_2 content and SOD activity at the high concentration treatment were increased by 9.9% and 18.3%, respectively. Compared to the control group, MDA content and SOD activity of the rice seedlings at the high concentration treatment of epoxiconazole were increased by 18.6% and 37.0%, respectively. This study revealed the accumulation and transfer of triadimefon and epoxiconazole in rice plants and the exposure risk as well, and the results provided a reference for the rational use of triazole fungicides in rice production.

Key words: Triadimefon; Epoxiconazole; Rice; Enrichment and transfer; Physiological and biochemical indicators

水稻是我国主要粮食作物之一, 其在种植过程中容易遭受纹枯病、稻瘟病、白叶枯病等各种病害, 进而影响水稻的产量^[1]。化学防治是水稻病害治理过程中必不可少的手段, 其中以三唑酮

与氟环唑为代表的三唑类杀菌剂凭借高效、广谱、低毒、具有较强的内吸性等特点, 在防治水稻病害中被广泛应用^[2-4]。然而, 关于三唑类杀菌剂在水稻植株中的吸收富集规律, 以及是否会对水稻幼苗造成药害的研究鲜有报道, 分析三唑酮与氟环唑在水稻内的富集、转移动态以及对水稻幼苗的生理胁迫效应, 将为三唑类杀菌剂在水稻中的风险评估与合理施用提供理论基础。

活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 被认为是生物和非生物胁迫下造成细胞损伤的主要原因^[5-6]。活性氧具有较高的细胞毒性, 会导致脂质

收稿日期: 2024-09-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31772197)

作者简介: 岳远浩 (1995-), 男, 硕士, 研究方向为产地环境。

通信作者: 程江峰, 男, 博士, 副教授, E-mail: chengjiangfeng@qust.edu.cn

余向阳, 男, 博士, 研究员, E-mail: yu981190@hotmail.com

过氧化、蛋白质变性、DNA 突变、细胞死亡等^[7]。为了维持活性氧生成与消除平衡,植物在细胞中进化出了高效的酶类抗氧化与非酶类抗氧化防御系统。其中酶类抗氧化防御系统包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等^[8]。水稻植株体内活性氧含量与抗氧化酶活性间接反映水稻受到氧化损伤的程度^[9]。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

南粳 46(江苏省农业科学院粮食作物研究所),次氯酸钠溶液、水稻营养液、三唑酮原药(含量 96%,山东潍坊瑞丰化工股份有限公司),氟环唑原药(含量 97%,山东潍坊瑞丰化工股份有限公司),乙腈(分析纯),丙酮(南京响海生物科技有限公司),蛋白质试剂盒、叶绿素试剂盒、POD 试剂盒、SOD 试剂盒、丙二醛(Malondialdehyde,MDA)试剂盒、过氧化氢(H₂O₂)试剂盒(南京建成生物工程研究所),液相色谱质谱联用仪(LC/MS-1260/6410,美国安捷伦科技有限公司),数显恒温水浴锅(HH-2,常州国华电器有限公司),高速离心机(Centrifuge 5804R 型,德国艾本德公司),紫外可见分光光度计(A-1506 型,上海奥析科学仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 水稻幼苗培育

水稻种子用 5% 的次氯酸钠溶液浸泡 5 min,蒸馏水冲洗 5 次进行表面消毒。将消毒后的种子置于垫有中性滤纸的培养皿中,加入适量的蒸馏水(没过种身的一半为宜,每天更换一次蒸馏水)。在 32 ℃ 条件下避光催芽 2 d。选取萌发一致的种子置于水培盒中,在昼/夜温度为 35 ℃/25 ℃,光照时间 12 h 的条件下培养 5 d。水培盒中更换为水稻营养液,营养液每隔 3 d 更换一次,培养至三叶一心,待用^[10]。

1.2.2 三唑酮与氟环唑提取净化

使用 QuEChERS 法进行样品的提取净化^[11]。取新鲜待测水稻茎叶剪碎于粉碎机加入液氮打碎,称取粉末 0.2 g 至 10 mL 离心管,加入 2 mL 乙腈后涡旋 1 min,加入 50 mg 氯化钠,涡旋 1 min,5 000 r/min 离心 3 min,取 1 mL 上清液于新的 5 mL 离心管中,依次加入 75 mg MgSO₄, 20 mg PSA 和 10 mg

GCE,涡旋 1 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜转移至进样小瓶,待检测。水稻根部三唑酮与氟环唑提取净化方法与茎叶相同,净化剂改为 75 mg MgSO₄ 和 20 mg PSA。

水稻营养液中三唑酮与氟环唑的提取净化,取待测水稻营养液 2 mL 至 10 mL 离心管,加入 2 mL 乙腈后涡旋 1 min,加入 50 mg 氯化钠,涡旋 1 min,静置至分层,取 1 mL 上层乙腈于新的 5 mL 离心管中,加入 75 mg MgSO₄,涡旋 1 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜转移至进样小瓶,待检测。

1.2.3 三唑酮与氟环唑检测

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18 (100×2.1 mm, 3.5 μm);流动相为乙腈:0.1% 甲酸水(V:V)=90:10;流速:0.4 mL/min;反应时间:5 min;离子源:电喷雾离子源(ESI),正离子模式;目标化合物:三唑酮、氟环唑;扫描方式:MRM 多反应检测;进样量:5 μL。

1.2.4 水稻对三唑酮与氟环唑的吸收富集

选取三叶一心的水稻幼苗,分别在水培盒中加入一定比例的三唑酮与氟环唑标准溶液,使营养液中三唑酮或氟环唑的浓度为 1 mg/L。每个处理设置 3 个重复,于开始处理后 0.5、1、2、4、6 d 采集样品,样品按照 1.2.2 的方法提取水稻中三唑酮、氟环唑,并按照 1.2.3 的方法进行检测。

1.2.5 生物量的测定

选取三叶一心的水稻幼苗,在水培盒中加入一定比例的三唑酮与氟环唑标准溶液,使营养液中三唑酮和氟环唑的浓度分别为:0、0.01、0.05、0.1、0.5、1、2、5 mg/L,每种浓度分别设置 3 组重复,培养 10 d。将处理 10 d 后的水稻用直尺测量水稻株高和根长,记录数据^[12]。

1.2.6 生理生化指标测定

根据生物量测定结果,分别配制三唑酮浓度为 0、0.1、1 mg/L 与氟环唑浓度为 0、0.01、0.1 mg/L 的营养液,对三叶一心水稻幼苗进行胁迫处理。培养 10 d 后,准确称取植物新鲜组织 0.5 g,加入 4.5 mL 的生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆,3 500 r/min 离心 10 min,取上清液待测。用试剂盒测定水稻幼苗的蛋白质含量、叶绿素含量、H₂O₂ 含量、MDA 含量、POD 活力、SOD 活力。

1.3 数据分析

所有试验均为 3 次重复(n=3),试验结果采用 SPSS 22.0 数据处理软件进行单因素方差分析(Duncan 测试)。

2 结果与分析

2.1 三唑酮与氟环唑在水稻中的富集和转移

在水稻根部氟环唑的含量高于三唑酮含量(图1A),可能是由于三唑酮疏水性较低,更容易从水稻根部解吸,通过水稻的运输系统运送到水稻的茎叶部分^[13]。疏水性更强的氟环唑与水稻根部紧密结合,不容易流失。在0.5 d至1 d时,水稻茎叶中三唑酮含量高于氟环唑含量,也是说明了

上述观点。2 d之后水稻茎叶中氟环唑含量高于三唑酮含量(图1B),可能是由于三唑酮在水稻中降解速率比氟环唑更快^[14-15],而氟环唑不断累积导致。在稻田水中三唑酮半衰期为4.3 d,氟环唑半衰期为15 d,因此在营养液中三唑酮比氟环唑更快降解,三唑酮含量低于氟环唑含量(图1C)。在4~6 d时,由于蒸腾作用加剧,营养液严重流失,导致氟环唑含量有所上升。

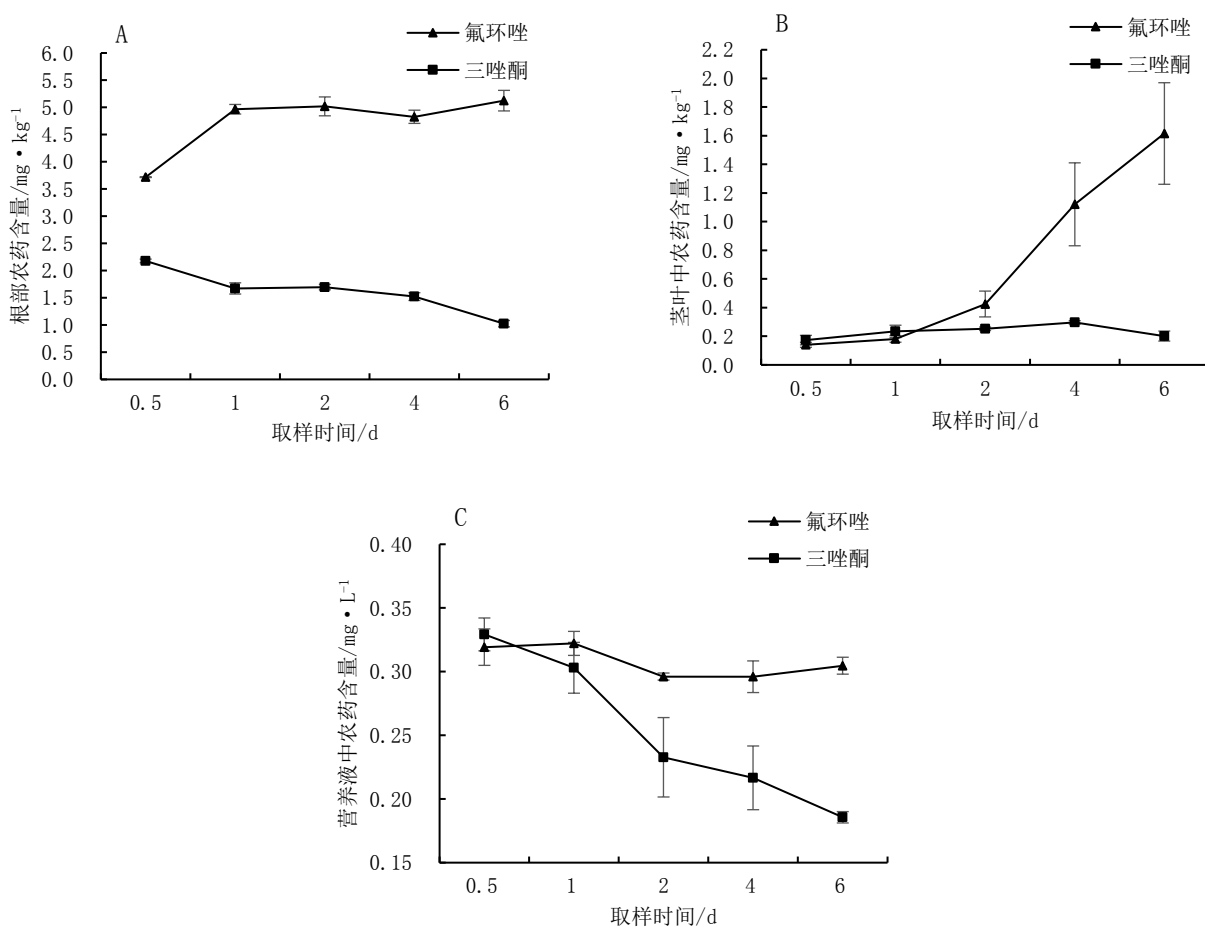


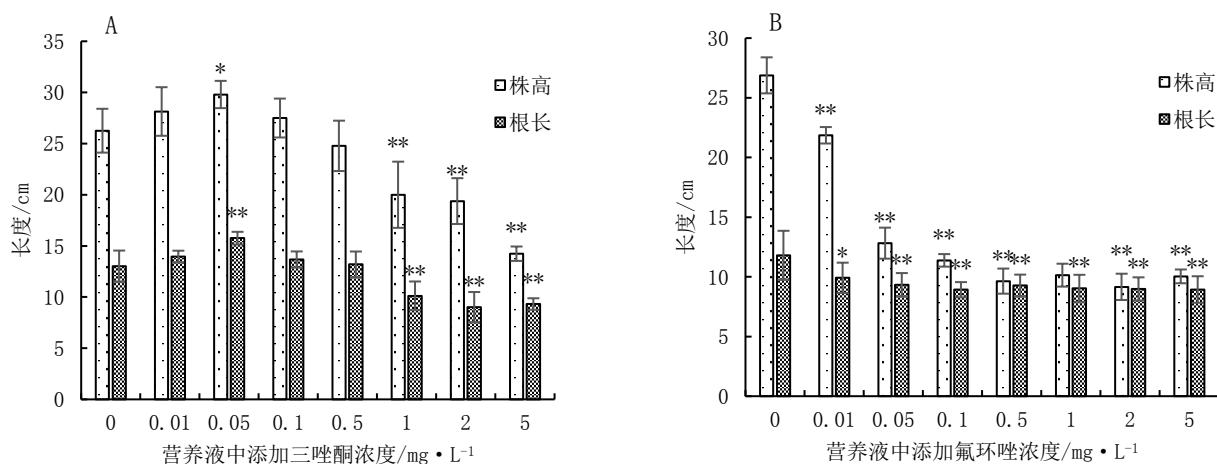
图1 三唑酮与氟环唑在水稻根部、茎叶中富集动态及营养液中残留动态

2.2 三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗生物量的影响

如图2A所示,水稻幼苗的株高和根长随着三唑酮浓度的升高呈现出先增高后降低的趋势。营养液中三唑酮浓度为0.05 mg/L 时,与对照相比,水稻幼苗的株高增加13.48%,根长增加21.04%。营养液中三唑酮浓度为5 mg/L 时,水稻幼苗的株高相比于对照减少45.77%,根长减少28.42%。营养液中三唑酮浓度较低时,促进水稻幼苗根部的

生长,当营养液中三唑酮浓度较高时,抑制水稻幼苗茎叶的生长。

如图2B所示,水稻幼苗的株高和根长随着氟环唑浓度的升高呈现出不断下降的趋势。营养液中氟环唑浓度达到0.5 mg/L 后,水稻幼苗的株高和根长的下降趋势变得较为平缓。营养液中氟环唑浓度为1 mg/L 时,水稻幼苗的株高相比于对照减少62.28%,根长减少23.39%。可见氟环唑对水稻幼苗茎叶的影响要强于对根部的影响。



注：“*”表示差异显著($P<0.05$), “**”表示差异极显著($P<0.01$), 下同。

图2 不同浓度的三唑酮(A)与氟环唑(B)对水稻幼苗生物量的影响

2.3 三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗生理指标的影响

2.3.1 三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素含量的提高,可以促进光合作用,防止光抑制对植物生长的阻碍^[6]。如图3所示,在三唑酮胁迫下,水稻幼苗中叶绿素含量随着营养液中三唑酮浓度的升高呈现出先增加后降低的趋势。氟环唑胁迫下,叶绿素含量随着营养液中氟环唑浓度的增加逐渐降低。该变化趋势与在三唑酮与氟环唑胁迫下水稻幼苗生物量的变化趋势一致。低浓度的三唑酮促进叶绿素含量的升高,可能是由于低浓度的三唑酮增强水稻的光合作用,促进水稻发育^[17],从而水稻植株中叶绿素含量升高。叶绿素含量的降低可能与乙烯合成的增加有关,三唑酮与氟环唑胁迫促进乙烯合成的增加,

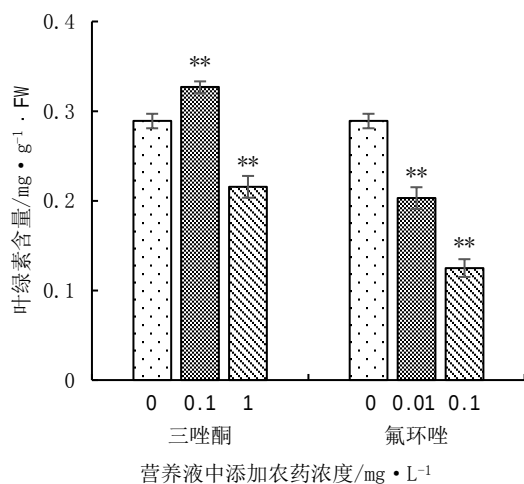


图3 不同浓度的三唑酮和氟环唑对水稻幼苗叶绿素含量的影响

乙烯降解脂质破坏了细胞膜的完整性。乙烯与叶绿体直接接触,激活叶绿素酶基因,导致叶绿素含量下降^[18]。

2.3.2 三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗 H₂O₂ 含量的影响

H₂O₂由机体进行正常的代谢产生,H₂O₂过量会导致脂质过氧化、蛋白质过氧化、酶抑制,最终导致植物细胞的死亡^[19]。如图4所示,在三唑酮与氟环唑胁迫下,水稻幼苗中的H₂O₂含量均随着营养液中三唑酮与氟环唑的浓度升高呈现出先降低后增加的趋势。

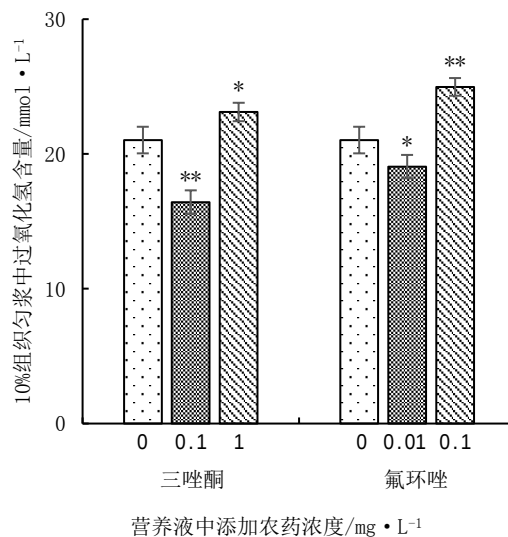


图4 不同浓度的三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗 H₂O₂ 含量的影响

2.3.3 三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗 MDA 含量的影响

MDA的含量常常反映了机体内脂质过氧化的程度,间接地反映出机体细胞受自由基攻击的

严重程度^[20]。如图5所示,三唑酮胁迫下,水稻幼苗中MDA的含量随着营养液中三唑酮浓度的升高呈现出先降低后升高的趋势。在氟环唑胁迫下,水稻幼苗中MDA的含量随着营养液中氟环唑浓度的升高呈现出逐渐升高的趋势。

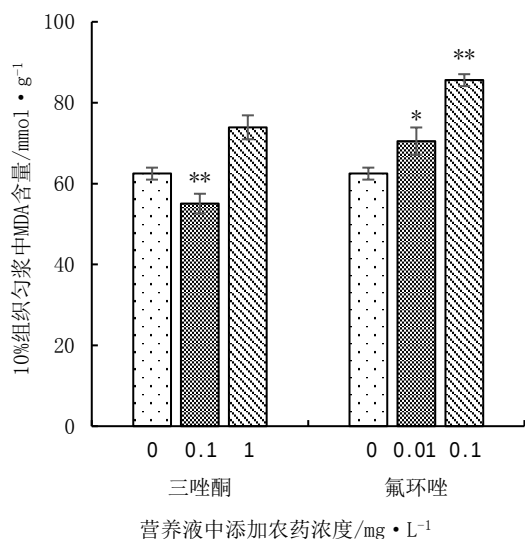


图5 不同浓度的三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗MDA含量的影响

2.3.4 三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗POD活力的影响

POD是氧化还原酶的一种,在植物中大量存在,POD能够缓解植物受到的氧化损伤。如图6所示,在三唑酮胁迫下,水稻幼苗中POD活力随着营养液中三唑酮浓度的升高呈现出先降低后升高的趋势。在氟环唑胁迫下,水稻幼苗中POD活

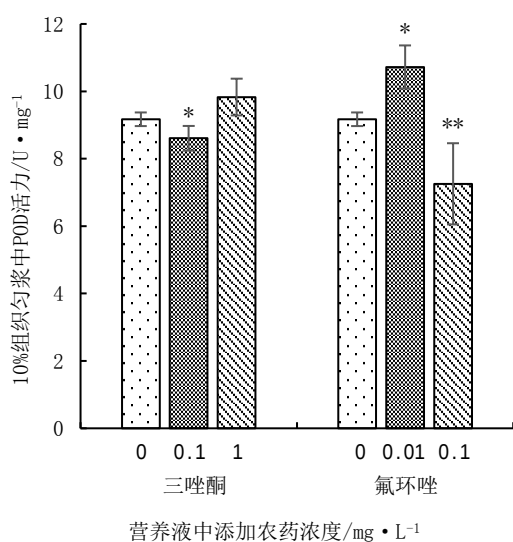


图6 不同浓度的三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗POD活力的影响

力随着营养液中氟环唑浓度的升高呈现出先升高后降低的趋势。

2.3.5 三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗SOD活力的影响

SOD对机体维持氧化与抗氧化平衡起着重要的作用,SOD能够清除超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$),保护细胞免受损伤^[21]。如图7所示,在三唑酮胁迫下,水稻幼苗中SOD活力随着营养液中三唑酮浓度的升高呈现出先降低后升高的趋势。在氟环唑胁迫下,水稻幼苗中SOD的活力随着营养液中氟环唑浓度的升高呈现出逐渐增高的趋势。

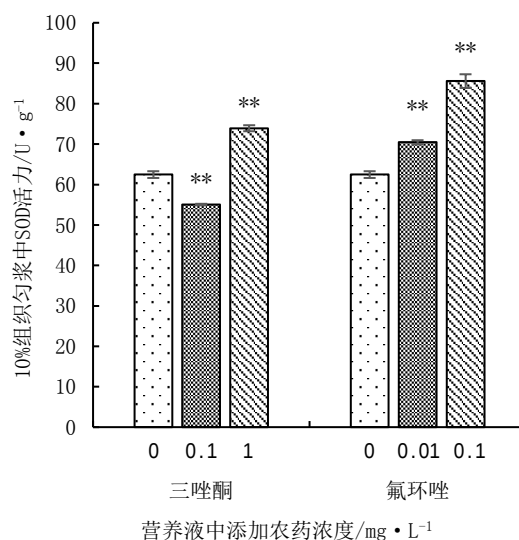


图7 不同浓度的三唑酮与氟环唑处理对水稻幼苗SOD活力的影响

3 结 论

在水培条件下,氟环唑疏水性较强,水稻根部更容易吸附氟环唑,三唑酮疏水性较弱,更容易转移到水稻的茎叶部分,三唑酮与氟环唑在水稻吸收、吸附和转运行为与三唑酮和氟环唑的疏水性有关。三唑酮比氟环唑更容易降解,因此各组织中氟环唑的含量高于三唑酮含量,三唑酮与氟环唑在水稻组织与营养液中的累积,受到三唑酮与氟环唑在不同介质中的消解半衰期的影响较大。

根据水稻幼苗生物量与叶绿素含量的变化趋势,说明低浓度的三唑酮可能促进水稻幼苗的生长。营养液中三唑酮浓度较低时,水稻幼苗中MDA与 H_2O_2 含量低于对照,POD活力与SOD活力同样低于对照,该变化趋势与双酚A对玉米幼苗具有低促高抑现象的结果相似^[22]。低浓度的三唑酮可以促进水稻发育,从而促使水稻胡萝卜素、

类黄酮、抗坏血酸等非酶类抗氧化剂的增加^[23],降低水稻幼苗活性氧的含量,减少水稻细胞损伤,促进水稻生长。反之,营养液中三唑酮浓度较高时,水稻幼苗中活性氧含量增加,细胞损伤加大,水稻生长受到阻碍。

随着营养液中氟环唑浓度逐渐增加,水稻生长受到的抑制也越来越强。该变化趋势与阿维菌素和吡虫啉抑制小麦幼苗生长的结果相似^[24]。营养液中氟环唑浓度较低时,水稻幼苗中 H_2O_2 含量低于对照,MDA含量高于对照,SOD活力与POD活力均高于对照,推测是由于氟环唑胁迫下,水稻幼苗中超氧阴离子含量增加,一部分被SOD转化为 H_2O_2 后,被POD催化分解,一部分攻击水稻细胞中不饱和脂肪酸,引起MDA含量增加。当营养液中氟环唑浓度进一步升高时,水稻幼苗中 H_2O_2 大量积累,过量的 H_2O_2 抑制了POD活力,对水稻幼苗生长的抑制作用更加明显。

通过对水稻生理生化指标的测定,探究水稻体外环境对水稻生命活动的影响,初步揭示了三唑酮与氟环唑对水稻生长发育的影响规律,为进一步研究三唑类农药对水稻生长的调节与控制机理奠定了基础。

参考文献:

- [1] 陈德西,何忠全,封传红,等.水稻主要病害发生区划研究[J].西南农业学报,2014,27(3):1072-1078.
- [2] 孙太安,孙太权,张献,等.三种杀菌剂对中稻稻曲病的防治效果比较[J].广西植保,2019,32(1):21-22.
- [3] 吉沐祥,庄义庆,缪康,等.苯醚·己唑醇对水稻纹枯病菌室内抑菌活性及田间防治效果[J].江苏农业学报,2011,27(1):219-220.
- [4] 周松,张玉涛,张秋云,等.三唑酮和苯醚甲环唑在草莓及土壤中残留消解动态[J].江苏农业科学,2017,45(15):164-166.
- [5] Kumar M, Chand R, Dubey R S, et al. Effect of Tricyclazole on morphology, virulence and enzymatic alterations in pathogenic fungi *Bipolaris sorokiniana* for management of spot blotch disease in barley[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2015, 31(1):23-35.
- [6] Parvin K, Hasanuzzaman M, Bhuyan M H M B, et al. Quercetin Mediated Salt Tolerance in Tomato through the Enhancement of Plant Antioxidant Defense and Glyoxalase Systems[J]. Plants, 2019, 8(8):247.
- [7] Mahmud J A, Hasanuzzaman M, Nahar K, et al. γ -aminobutyric acid (GABA) confers chromium stress tolerance in *Brassica juncea* L. by modulating the antioxidant defense and glyoxalase systems[J]. Ecotoxicology, 2017, 26(5): 1-16.
- [8] 张俊霞,刘晓鹏,向极钎.植物抗氧化系统对逆境胁迫的动态响应[J].湖北民族学院学报(自然科学版),2015,33(4):435-439.
- [9] 冯绪猛.常用化学农药对水稻生理生化影响及机理研究[D].扬州:扬州大学,2004.
- [10] 刘燕,姚媛媛,杨越超,等.小分子有机酸钾对水稻种子萌发和幼苗生长的影响[J].植物营养与肥料学报,2019,25(12):2142-2151.
- [11] Paula Payá, Anastassiades M, Mack D, et al. Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection[J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2007, 389(6): 1697-1714.
- [12] 卢一辰.小麦和水稻对异丙隆和阿特拉津的毒性反应及代谢降解机制的研究[D].南京:南京农业大学,2016.
- [13] Jiyan Liu, Jerald L. Schnoor. Uptake and translocation of lesser-chlorinated polychlorinated biphenyls (PCBs) in whole hybrid poplar plants after hydroponic exposure[J]. Chemosphere, 2008, 73(10):1608-1616.
- [14] 刘菲菲.三种农药在水稻及其环境中的分布、迁移和残留研究[D].杭州:浙江大学,2013.
- [15] 戴亮,蔡智华,郭正元.氟环唑在稻田环境中的消解动态研究[J].安徽农业科学,2015,43(5):137-139.
- [16] 刘俊美,单长卷.硒对镉胁迫下玉米幼苗生理特性的影响[J].东北农业科学,2020,45(3):1-5.
- [17] 李曼,王庆庆,王丽红,等.双酚A对大豆、玉米和水稻叶绿素荧光反应的影响[J].环境科学学报,2014,34(4):1068-1073.
- [18] Gilani M, Danish S, Ahmed N, et al. Mitigation of drought stress in spinach using individual and combined applications of salicylic acid and potassium[J]. Pakistan Journal of Botany, 2020, 52(5):1-9.
- [19] Mohsin S M, Hasanuzzaman M, Nahar K, et al. Tebuconazole and trifloxystrobin regulate the physiology, antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems in conferring salt stress tolerance in *Triticum aestivum* L[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2020, 26(6):1139-1154.
- [20] 周娜娜,武耀廷,高华援,等.铜胁迫对花生幼苗生长及生理代谢的影响[J].东北农业科学,2019,44(6):6-9.
- [21] 郝曦煜,梁杰,陈剑,等. Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 浸种及喷施对绿豆产量及叶片部分生理指标的影响[J].东北农业科学,2017,42(5):25-29.
- [22] 许艳梅,贝丽霞,张恒,等.双酚A对玉米幼苗光合及抗氧化作用的影响[J].植物生理学报,2016,52(1):101-108.
- [23] 杜秀敏,殷文璇,赵彦修,等.植物中活性氧的产生及清除机制[J].生物工程学报,2001,17(2):121-125.
- [24] 李新阳.阿维菌素和吡虫啉对小麦幼苗生理生化的影响[D].泰安:山东农业大学,2016.

(责任编辑:王 昱)