DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251027001
引用格式: 潘宁宁, 侯佳音, 李蒙, 等. 稻曲病发病区稻谷的水提取物对斑马鱼的毒性效应[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(2): 206–212.
PAN NN, HOU JY, LI M, *et al*. Toxicity effects of the water extracts from *Ustilaginoidea virens*-infected *Oryza sativ* on *Danio rerio* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(2): 206–212. (in Chinese with English abstract).

稻曲病发病区稻谷的水提取物对斑马鱼的毒性效应

潘宁宁[1,2], 侯佳音[1], 李　蒙[1], 刘志禹[1], 弭莹秋[1], 何　俊[2], 陈列忠[1*]

(1. 浙江省农业科学院, 农产品质量安全全国重点实验室, 杭州　310021;
2. 宁波大学食品科学与工程学院, 宁波　315800)

摘　要: 目的　探讨稻曲病发病区稻谷的水提取物[主要成分为稻曲菌素 A (ustiloxin A, UA)]对斑马鱼胚胎的发育毒性及其分子机制。**方法**　将斑马鱼胚胎暴露于 0.1、0.5、2.5 mg/L(以 UA 的量计算)的稻曲病发病区稻谷的水提取物中, 暴露 120 h 后测定其死亡率、体长、心率、心包囊水肿率和脊柱弯曲率等发育表型指标; 采用实时荧光定量聚合酶链式反应技术检测心脏发育相关基因(*Nkx2.5*、*Tbx5*、*Tnnt2*、*Gata4*、*Nppa*、*Nppb*)与骨骼发育相关基因(*Col8a1a*、*Bmp2b*、*Ngs*、*Ihh*、*Shh*)的信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid, mRNA)表达水平。**结果**　与对照组(不含水提取物的斑马鱼培养液)相比, 3 个暴露组斑马鱼胚胎的死亡率、心包囊水肿率均显著升高; 0.5 mg/L 和 2.5 mg/L 暴露组斑马鱼胚胎的脊柱弯曲率显著升高, 体长显著缩短且 2.5 mg/L 暴露组斑马鱼胚胎的心率显著上升(P<0.05)。基因表达结果显示, 0.1 mg/L 组中 *Tbx5*、*Nppa*、*Nppb*、*Bmp2b* 和 *Ihh* 基因表达已显著下调; 随着暴露质量浓度增加至 0.5 mg/L 和 2.5 mg/L, 几乎所有检测的心脏与骨骼发育关键基因表达均被显著抑制。**结论**　稻曲病发病区稻谷的水提取物可诱导斑马鱼胚胎产生心脏和骨骼发育毒性, 其机制可能与剂量依赖性地抑制心脏与脊柱发育关键基因的表达有关, 因此, 长期食用被稻曲菌侵染过的大米对动物可能存在健康风险。

关键词: 稻谷; 稻曲菌; 稻曲菌素; 斑马鱼; 心脏发育; 骨骼发育

Toxicity effects of the water extracts from *Ustilaginoidea virens*-infected *Oryza sativ* on *Danio rerio*

PAN Ning-Ning[1,2], HOU Jia-Yin[1], LI Meng[1], LIU Zhi-Yu[1], MI Ying-Qiu[1], HE Jun[2], CHEN Lie-Zhong[1*]

(1. *State Key Laboratory for Quality and Safety of Agro-Products*, *Zhejiang Academy of Agricultural Sciences*, *Hangzhou* 310021, *China*; 2. *College of Food Science and Engineering*, *Ningbo University*, *Ningbo* 315800, *China*)

收稿日期: 2025-10-27
基金项目: 浙江省“三农九方”科技协作计划项目(2025SNJF053)
第一作者: 潘宁宁(2000—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为真菌毒素毒理学。E-mail: 17857816803@163.com
***通信作者:** 陈列忠(1975—), 男, 博士, 研究员, 主要研究方向为真菌毒素与风险防控。E-mail: zwsclz@163.com

ABSTRACT: Objective　To investigate the developmental toxicity and molecular mechanisms of the water extracts from *Ustilaginoidea virens*-infected *Oryza sativ* [mainly containing ustiloxin A (UA)] in *Danio rerio* embryos. **Methods**　*Danio rerio* embryos were exposed to 0.1, 0.5 and 2.5 mg/L of the water extracts from *Ustilaginoidea virens*-infected *Oryza sativ* (calculated based on UA concentration) for 120 h. Developmental parameters, including mortality, body length, heart rate, pericardial edema rate and spinal curvature rate, were evaluated. Quantitative real-time polymerase chain reaction was used to determine the messenger ribonucleic acid (mRNA) expression of cardiac development-related genes (*Nkx2.5*, *Tbx5*, *Tnnt2*, *Gata4*, *Nppa*, *Nppb*) and skeletal development-related genes (*Col8a1a*, *Bmp2b*, *Ngs*, *Ihh*, *Shh*). **Results**　Compared with the control group (*Danio rerio* culture medium without the water extracts), all exposure groups exhibited significantly higher mortality and pericardial edema rates. In the 0.5 mg/L and 2.5 mg/L groups, spinal curvature incidence significantly increased and body length significantly reduced. Moreover, the heart rate of *Danio rerio* embryos in the 2.5 mg/L exposure group significantly increased (P<0.05). Gene expression analysis revealed that in the 0.1 mg/L group, the expression of *Tbx5*, *Nppa*, *Nppb*, *Bmp2b and Ihh* was significantly downregulated. With increasing exposure mass concentrations (0.5 mg/L and 2.5 mg/L), nearly all examined key genes involved in cardiac and skeletal development were markedly suppressed. **Conclusion**　The water extract prepared from *Ustilaginoidea virens*-infected *Oryza sativ*induces significant developmental toxicity in *Danio rerio* embryos, particularly impairing cardiac and skeletal development. These effects are likely mediated by the dose-dependent suppression of key developmental genes, suggesting that long-term consumption of *Ustilaginoidea virens*-infected rice may pose potential health risks to animals.

KEY WORDS: *Oryza sativ*; *Ustilaginoidea virens*; ustiloxins; *Danio rerio*; cardiac development; skeletal development

0　引　言

稻曲病是由稻曲病菌(*Ustilaginoidea virens*)引起的水稻穗部重要真菌病害[1]。自 19 世纪末在印度首次报道以来, 其危害范围已从亚洲主产区扩展至非洲、南美洲及欧洲的 40 余个水稻种植国家和地区[2]。随着高产水稻品种的密集种植与氮肥的过量施用, 稻曲病的流行趋势日益严重, 已成为威胁全球水稻生产的重要病害之一[3]。

稻曲菌素(ustiloxins)是稻曲病菌产生的一类具有特殊环肽结构的水溶性真菌毒素, 目前已鉴定出 6 种主要类型的稻曲菌素, 包括稻曲菌素 A (ustiloxin A, UA)、稻曲菌素 B (ustiloxin B, UB)、稻曲菌素 C (ustiloxin C, UC)、稻曲菌素 D (ustiloxin D, UD)、稻曲菌素 F (ustiloxin F, UF)和稻曲菌素 G (ustiloxin G, UG)[4]。其中, UA 在染病稻谷中含量最高(约占稻曲菌素总量的 80%), 毒性也最为显著。水稻穗部是稻曲菌侵染的主要部位, 因此, 稻曲病发生稻区的稻米中稻曲菌毒素残留十分普遍, 已成为影响稻米质量安全的重要污染物[5]。祭芳等[6]使用高效液相色谱-串联质谱法定量检测稻谷中的 UA 和 UD, 发现江苏 10 个地区的稻谷中 UA 与 UD 的最高浓度分别达到 161.44 μg/kg、1804 μg/kg; HU 等[7]2023 年对中国五大水稻主产区的 206 份稻米样品检测显示, UA、UB、UG 平均检出浓度分别为 49.71、13.31、9.19 μg/kg。另有研究在湖南省 300 份水稻样品中检出 UA、UB、UC、UD、UF, 最高含量分别达 3620.9、693.7、903.9、222.5 和 179.2 μg/kg[8]。上述研究表明, 由稻曲菌产生的稻曲菌素在稻米中的污染已不容忽视, 亟需通过系统毒理学评估揭示其对消费者健康的潜在危害。

现有毒理学研究表明, 稻曲菌素对动物具有广泛的生物毒性。在斑马鱼胚胎中, UA 暴露可引发急性发育毒性, 表现为孵化抑制、心率异常及运动行为障碍[9]; 小鼠经口毒性实验进一步发现, UA 抑制小鼠线粒体呼吸链功能, 导致线粒体损伤从而引发肾毒性[10]; 此外, 在实际养殖中, 猪采食感染稻曲病的谷物后, 可在数日内出现以发热、厌食、呼吸困难、运动障碍及繁殖障碍(如母猪流产、泌乳停止)为特征的中毒症状, 从实际应用层面印证了其动物毒性风险[11]; 已有研究证明, 稻曲球水提取物能通过激活核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶-1 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1, Nrf2/HO-1)抗氧化应激通路和线粒体介导的细胞凋亡通路, 导致实验动物肝损伤[12]。这些研究虽揭示了稻曲菌素及其提取物的部分毒性机制, 但对由其引发的器官特异性发育畸形, 尤其是对心脏与骨骼系统的影响仍缺乏系统研究。

基于上述研究现状, 本研究以稻曲病发病区稻谷的水提取物为研究对象, 系统评估其在环境相关浓度下对斑马鱼胚胎心脏与骨骼发育的特异性影响。斑马鱼(*Danio rerio*)是一种常见的热带鱼, 因其产卵率高、胚胎透明、发育快速、基因操作便捷且与人类基因同源性高等特点, 已成为环境污染物与食品毒素安全性评价的理想模型生

物[13−14]。本研究以斑马鱼胚胎为模型研究了稻曲病发病区稻谷的水提取物(以下均简称“提取物”)对动物的健康影响。以提取物中 UA 检出浓度为衡量指标, 设置 0.1、0.5、2.5 mg/L 3 个暴露梯度, 系统观察提取物对斑马鱼胚胎死亡率、心率、体长及心包囊水肿率、脊柱弯曲率等关键发育指标的影响, 并进一步检测与心脏、脊柱发育关键基因的表达变化, 旨在从表型与分子层面探讨提取物对动物的健康影响, 为科学评估动物食用稻曲菌侵染稻米的健康风险提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

稻谷样品, 2023 年 8 月采集于浙江省绍兴市东湖农场; 斑马鱼为野生型 AB 系, 购于中国武汉国家斑马鱼中心。

甲酸(色谱纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 甲醇(色谱纯和质谱纯, 美国 Honeywell 公司); 纯水(杭州娃哈哈集团有限公司); RNA 提取、逆转录、荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司); 引物由北京擎科生物技术有限公司合成。

1.2 仪器与设备

LC3210 液相色谱仪(安徽皖仪科技股份有限公司); 2500C 多功能粉碎机(永康市红太阳机电有限公司); 200 目滤网(绍兴市上虞华丰五金仪器有限公司); Thermo Fisher 高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技中国有限公司); BSZ100 全自动部分收集仪(上海嘉鹏科技有限公司); 普通层析柱(26 mm×100 cm, 北京瑞达恒辉科技发展有限公司); RE100-PRO 旋转蒸发仪(大龙兴创实验仪器北京股份公司); JXFSTPRP-24L 全自动样品快速研磨仪(上海净信实业发展有限公司); HX-950F 超景深数码显微镜(日本基恩士有限公司); MIR-554L-PC 光照培养箱(普和希健康医疗器械上海有限公司); LightCycler96 实时荧光定量 PCR 仪(上海罗氏诊断公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 提取物的制备

提取物的制备方法参考 KOISO 等[15]建立的方法。取 500 g 干燥的稻曲病发病区的稻谷, 经水溶液浸泡并过滤后, 获得约 110 g 水提物。将该水提物上样至 250 mL ODS 层析柱, 用甲醇水进行洗脱。收集 20%甲醇水溶液的洗脱组分, 经浓缩后, 得到提取物。经高效液相色谱仪(high performance liquid chromatograph, HPLC)检测到提取物中 UA 的含量占 82%。

1.3.2 胚胎收集及暴露实验

斑马鱼养殖在除氯并经活性炭过滤的自来水中, 水温(26±1) ℃, 光照周期为 14 h 光照/10 h 黑暗, 喂食新鲜孵化的丰年虫, 每天早晚喂 2 次。实验前 1 d 晚上, 将雌雄鱼按照 1:1 比例放置在孵化槽中, 并用隔板将雌雄分开, 第 2 d 早上 7 点打开隔板, 开灯给予光照刺激使其交配产卵, 1 h 后进行收卵, 收集的全部受精卵清洗后用于暴露实验。

设置提取物中 UA 含量为 0.1、0.5、2.5 mg/L 的 3 个暴露组, 1 个空白对照组(不含水提取物的斑马鱼培养液), 每组设 5 个平行(n=5)。胚胎置于直径 90 mm 培养皿(暴露培养液 50 mL, 150 枚斑马鱼胚胎)。暴露期间(28±0.5) ℃恒温培养, 每隔 24 h 更换等量等浓度的培养液并清理死亡胚胎, 暴露 120 h 后收样。

1.3.3 幼鱼相关形态学指标统计

斑马鱼胚胎暴露 24、48、72、96、120 h 时, 观察胚胎的死亡情况(肉眼观察可见全身呈乳白色或不透明, 或在显微镜下观察到胚胎呈絮状凝结且心脏完全停止搏动), 统计死亡率; 在超景深数码显微镜下观察 120 h 时畸形率(心包囊水肿、脊柱弯曲)以及斑马鱼的心跳频率。

1.3.4 荧光定量 PCR 测定

使用 Primer 6.0 软件设计各基因引物(表 1)并送由北京擎科生物技术有限公司合成。定量反转录聚合酶链式反应 (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)数据分析采用 β-肌动蛋白作为内参基因进行标准化处理。根据目标基因和 β-肌动蛋白的 Ct 值, 使用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算目标基因的相对表达量。

表 1 引物序列信息

Table 1 Information of primer sequence

名称	引物序列
β-actin-F	TCTTCCAGCCTTCCTTCCT
β-actin-R	ATCTTCATGGTGGAAGGAGCA
Nkx2.5-F	AGCATCCAACCTTCACAGTCC
Nkx2.5-R	AAAAACATCCCAGCCAAACC
Tbx5-F	ATTCGCCGATAACAAATGG
Tbx5-R	CGCCTTGACGATGTGGAT
Tnnt2-F	GGAAATCATCAGCCTCAAAGAC
Tnnt2-R	CATGTAACCGCCGAAGTGCA
Gata4-F	GCCGGGATACCGCAACTTAT
Gata4-R	AGTACGGAGCTGTCGAAGTG
Nnppa-F	GCTCCTGGTTTGGCAGCAG
Nppa-R	GAGCTGCTGCTTCCTCTCGG
Nppb-F	TGTTTCGGGAGCAAACTGGA
Nppb-R	GTTCTTCTTGGGACCTGAGCG
Col8a1a-F	AAATGGGTCCTGCCCTTGA
Col8a1a-R	CGGTCAGTTTGGCAGTGAAA
Bmp2b-F	AAAAGCCGAGGAGAAAGCAC-
Bmp2b-R	TGGGAATGTTGGAGTTGACC
Ngs-F	ACCACAACCATCACGAGTCT
Ngs-R	GTCTGCTGCTCCAGAAATGG
Ihh-F	GCTCACGCCGAACTACAA
Ihh-R	GCCGTCTTCATCCCAAC
Shh-F	GGCTGTTTCCCAGGTTC
Shh-R	GGTTCTTGCGTTTCTATGAC

1.4　数据处理

结果使用 IBM SPSS Statistics 25.0 软件对数据进行单因素方差分析，P<0.05 时认为差异显著，采用软件 Origin 2021 对结果进行图片绘制。

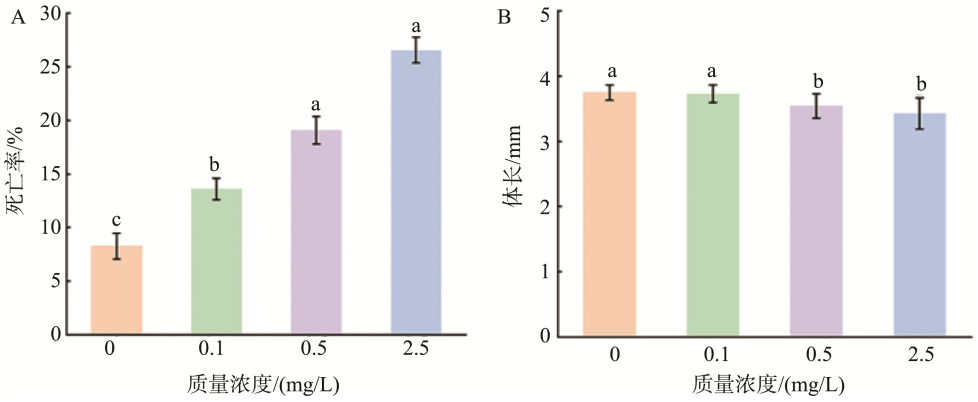
2　结果与分析

2.1　对斑马鱼整体生长发育的影响

与对照组相比，3 个提取物暴露组的死亡率均显著升高，分别为 14%、19%和 27%(图 1A)。同时，中浓度和高浓度暴露组仔鱼的体长显著缩短，较对照组分别下降 5.3%和 8.3% (P<0.05，图 1B)。HU 等[9]使用单一 UA 暴露斑马鱼胚胎，也观察到其在 0.16~16.83 mg/L 范围内对斑马鱼存活率和体长的抑制作用。胚胎的早期发育极度依赖于细胞的快速增殖，而这些过程进行需要微管系统等细胞骨架的支持，多项研究已证实 UA 可通过特异性结合 β-微管蛋白并抑制其聚合，从而破坏细胞骨架功能[16–18]。本研究中也发现提取物可引发斑马鱼基础发育毒性，但其毒性效应与 HU 等[9]相比更为显著，说明提取物中其他毒素也存在类似毒性，且相互之间可能存在增毒效应。

2.2　对斑马鱼心脏结构及功能的影响

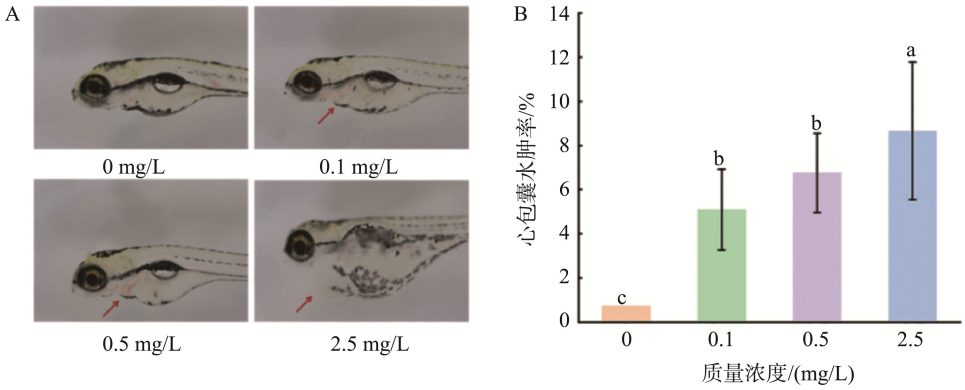
为进一步考察提取物的毒性效应机制，考察了暴露期间斑马鱼心脏的发育情况。结果表明，提取物暴露引发了显著的心脏毒性。形态学观察显示，低和中浓度暴露组中仔鱼出现轻微心包囊水肿，而在高浓度暴露组中，心包腔明显扩张，水肿程度显著加重(图 2A)。心包囊水肿发生率也随提取物浓度升高而增加，与对照组相比(0.7%)，3 个暴露组分别升至 5.0%、6.4%和 8.6% (P<0.05)(图 2B)。值得注意的是，提取物暴露导致斑马鱼胚胎心率呈现剂量依赖性升高。低浓度暴露组心率(80.6 次/30 s)和中浓度暴露组心率(84.6 次/30s)与对照组(81.3 次/30 s)无显著差异，而高浓度暴露组心率显著增至 88.4 次/30 s (P<0.05)(图 3)。心包囊水肿是心脏发育不全或功能衰竭的典型表现，心率显著升高则可能是心脏在结构异常的情况下，为维持循环功能而产生的代偿性反应。这些结果表明，提取物中某些成分可能靶向心脏的发育过程，导致其结构与功能的严重缺陷。



注：不同字母表示组间具有显著性差异(P<0.05)，图 2~4 同。

图 1　提取物暴露对斑马鱼整体生长发育的影响

Fig.1　Effects of extract exposure on the overall growth and development of *Danio rerio*



注：A. 斑马鱼心包囊水肿显微镜图(150×)；B. 斑马鱼心包囊水肿率。

图 2　提取物暴露对斑马鱼心脏形态的影响

Fig.2　Effects of extract exposure on cardiac morphology of *Danio rerio*

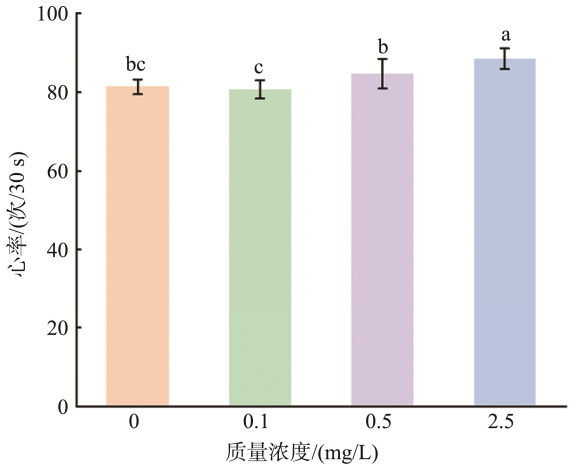


图 3 提取物暴露对斑马鱼心率的影响

Fig.3 Effects of extract exposure on heart rate of *Danio rerio*

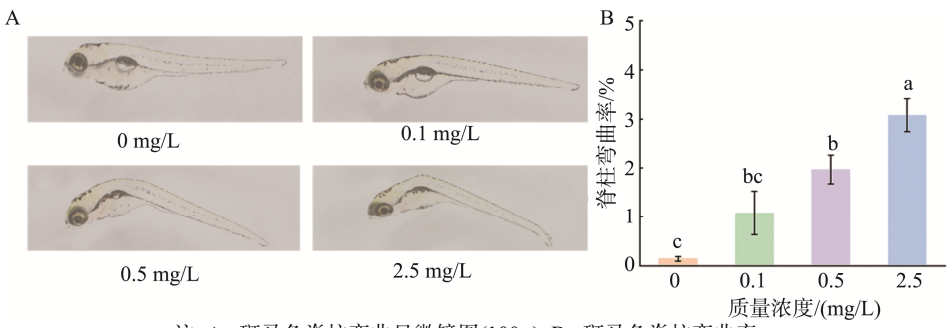
2.3 对斑马鱼脊柱发育的影响

结果表明，提取物暴露对斑马鱼脊柱发育也存在明显影响。暴露 120 h 后，与空白对照组相比，低浓度暴露组幼鱼出现轻微的脊柱弯曲，中和高浓度暴露组则较为明显(图 4A)。脊柱弯曲率随浓度升高也显著增加，3 个暴露组分别为 1.1%、2.0%和 3.1%(对照组 0.1%，P<0.05)(图 4B)。斑马鱼脊柱的形态建立经历连续的发育阶段，始于早期软骨结构的模式化，并在约受精后第 6 d (144 hpf)时逐步进入成骨矿化阶段[19−21]。因此，本研究在暴露 120 h 后观察到的脊柱弯曲，反映出提取物暴露导致脊柱早期发育环节出现了异常。此前文献报道，单一 UA (0.16~16.83 mg/L)暴露斑马鱼胚胎至 96 h 时，暴露组与对照组斑马鱼脊柱畸形率未见显著差异[22]。这与本研究的发现不同，提示稻曲病发病区稻谷的水提取物对斑马鱼脊柱发育毒性大于单一 UA 的毒性，这种增强的毒性可能是由于提取物中其他稻曲菌素(如 UB、UC、UD 等)的作用或者多种毒素的协同效应。

2.4 对心脏及脊柱发育相关基因转录表达的影响

为探索提取物对心脏和脊柱发育影响的生物学机制，共选择了 11 个相关基因进行 qRT-PCR 分析。其中，*Nkx2.5*、*Tbx5*、*Tnnt2*、*Gata4*、*Nppa* 和 *Nppb* 是心脏发育关键调控基因，*Bmp2b*、*Col8a1a*、*Ngs*、*Ihh* 和 *Shh* 则是骨骼发育的重要调控因子。结果显示，提取物显著干扰了心脏发育关键基因调控网络。与对照组相比，*Nkx2.5* 在中和高浓度暴露组的表达量分别为对照组的 66%和 72%，显著下调；*Tbx5* 在 3 个暴露组均显著下调，其中高浓度组下调最为显著，仅为对照组的 18%；*Gata4* 在中和高浓度暴露组的表达量也仅为对照组的 50%和 32%，差异显著(图 5)。*Nkx2.5*、*Tbx5* 与 *Gata4* 是心脏细胞分化、形态发生等的核心转录因子，它们之间通过形成蛋白质复合物协同激活下游靶基因[23]，这些基因的表达抑制可能与心包囊水肿等结构畸形的发生相关。这 3 个关键转录因子的一致下调，说明提取物并非仅影响单个基因，而是直接扰乱了心脏发育的核心转录调控模块。值得注意的是，已有研究表明，*Nkx2.5* 功能丧失的斑马鱼在胚胎发育过程中表现出心率升高的现象。在本研究中观察到随着水提取物暴露浓度升高，斑马鱼胚胎的心率显著加快，这可能与 *Nkx2.5* 基因表达的抑制相关[24]。*Tnnt2* 编码心肌肌钙蛋白 T，是执行心肌收缩功能的关键蛋白，其表达直接受 *Nkx2.5* 和 *Gata4* 等的调控[25]。在高浓度暴露组中，*Tnnt2* 表达量显著下调，导致了心肌收缩力减弱，从而在实验中观察到明显的心率代偿性加快。在心脏发育过程中，*Nppa* 和 *Nppb* 在发育中的心脏腔室中高表达，协同参与心腔形态建成的调控。已有研究表明，斑马鱼 *Nppa*/*Nppb* 双突变体表现出显著的心脏形态发育缺陷和心包水肿[26]。本研究中，即使在最低浓度暴露下，*Nppa* 和 *Nppb* 的表达也被显著抑制，并伴随心包水肿的出现。这说明，通过干扰 *Nppa*/*Nppb* 介导的心腔塑形过程，引发心脏功能异常和心包囊水肿，可能是提取物产生心脏毒性的一个重要机制。

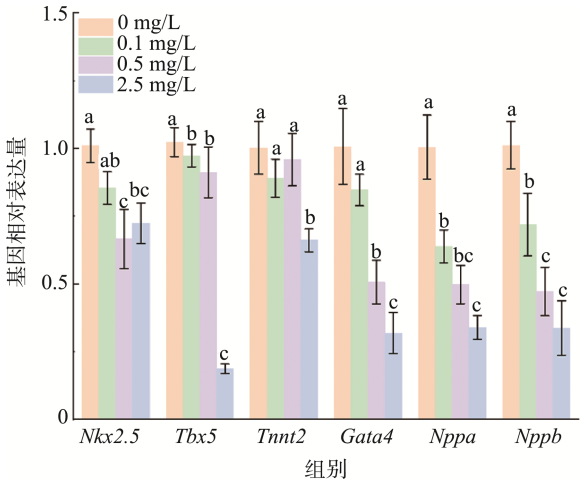
在脊柱发育方面，提取物暴露同样显著干扰了关键调控基因的表达网络。与对照组相比，*Ihh* 在 3 个暴露组的表达量分别显著下降至对照组的 35%、68%和 50%；*Shh* 在中和高浓度暴露组分别降至对照组的 69%和 88%(图 6)。*Ihh* 与 *Shh* 是 Hedgehog 信号通路的核心配体，Hedgehog 信号是调控体轴形成和软骨内成骨的核心通路，其功能失活会导致严重的轴向骨骼畸形[27]。*Ihh* 和 *Shh* 显著下调可能是导致体长缩短和脊柱弯曲的重要原因。在小鼠实验中，



注：A. 斑马鱼脊柱弯曲显微镜图(100×)；B. 斑马鱼脊柱弯曲率。

图 4 提取物暴露对斑马鱼脊柱发育的影响

Fig.4 Effects of extract exposure on spinal development of *Danio rerio*



注: 不同字母表示同一基因在不同浓度组的相对表达量在统计学上具有显著差异(P<0.05), 下同。

图 5　提取物暴露对斑马鱼仔鱼心脏发育相关基因表达的影响

Fig.5　Effects of extract exposure on the expression of cardiac development-related genes of *Danio rerio*

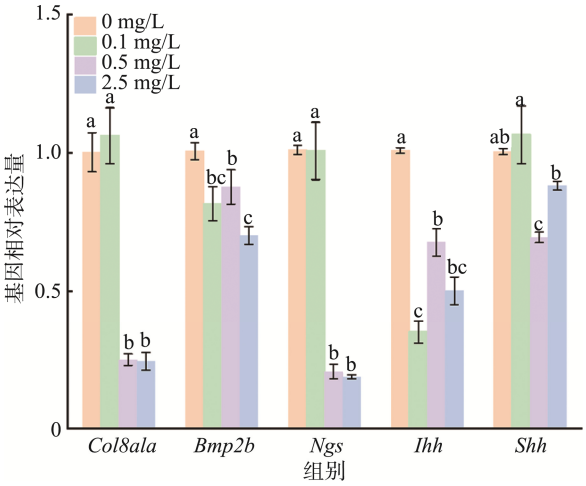


图 6　提取物暴露对斑马鱼仔鱼脊柱发育相关基因表达的影响

Fig.6　Effects of extract exposure on the expression of spinal development-related genes of *Danio rerio*

Ihh 缺失会导致 *BMP2* 水平下降, 这表明 *BMP2* 在膜内骨化过程中位于 *Ihh* 的下游[28–29]。本研究的结果与上述机制相似: 在提取物暴露下, 斑马鱼胚胎中 *Ihh* 的表达在低浓度组即被显著抑制至对照组的 35%, 其下游基因 *Bmp2b*(斑马鱼中 *BMP2* 的同源基因)的表达在中及高浓度组也出现显著下调。*Bmp2b* 是斑马鱼中调控成骨细胞分化和骨骼发育的关键因子, 在胚胎发育中起重要作用, 同时也是 *BMP* 成骨信号通路中的一个关键配体。敲除 *Bmp2b* 基因的斑马鱼的背部节段形成异常, 胚胎无法存活[30–31]。这种抑制关系清晰地表明, 提取物很可能是通过首先抑制 *Ihh* 这一上游信号, 进而阻断了其下游的 *BMP* 成骨信号通路, 导致 *Bmp2b* 表达下降。*Bmp2b* 的下调直接影响成骨分化, 导致了成骨分化受阻, 共同导致斑马鱼幼鱼脊柱弯曲畸形。*Ngs* 和 *Col8a1a* 在中和高浓度暴露组被显著抑制, 分别仅为对照组的 21%、19%和 25%、24%。*Ngs* 对于维持脊索的正常发育至关重要, 其通过保障胚胎的纵向生长与骨骼系统形成, 在脊椎动物早期发育中发挥关键作用, 其突变可导致脊索发育异常, 进而致使椎骨发育畸形[32–33]。*Col8a1a* 编码 VIII 型胶原蛋白是构成脊索鞘膜的关键结构成分, 其功能缺失会直接破坏椎体发育的微观结构支架, 提取物通过显著抑制对脊柱发育至关重要的结构基因 *Col8a1a*, 从而引发了斑马鱼幼鱼脊柱弯曲[34]。

3　结　论

本研究通过系统观察斑马鱼胚胎的死亡率、体长、心包囊水肿率和脊柱弯曲率等发育指标, 并结合心脏与骨骼发育关键基因的表达分析, 证实稻曲病发病区稻谷的水提取物(主要成分为 UA)对斑马鱼早期发育过程具有显著的毒性效应。通过本研究说明, 动物长期摄入含稻曲菌素的稻米, 可能会对心脏和脊柱发育形成健康风险。目前, 我国对稻米及其制品中系列稻曲菌素的残留限量仍无指导性标准, 通过系统研究制订完善标准体系已显得十分必要。本研究采用了稻曲菌污染稻谷的水提取物作为研究对象, 可从整体上反映出动物摄入污染稻谷中多种稻曲菌素共同作用的结果, 但为科学全面了解各成分的毒性与相互作用, 后续研究有必要对所有稻曲菌素单体进行系统的毒理学比对与机制探索, 从而为精确评估稻曲病的健康风险与制定科学的食品安全标准提供坚实依据。

参考文献

[1] FU RT, WANG J, CHEN C, *et al*. Transcriptomic and metabolomic analyses provide insights into the pathogenic mechanism of the rice false smut pathogen *Ustilaginoidea virens* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(13): 10805.

[2] BAG MK, RAY A, MASURKAR P, *et al*. Genetic diversity and population structure analysis of isolates of the rice false smut pathogen *Ustilaginoidea virens* in India [J]. Plant Pathology, 2021, 70(5): 1085–1097.

[3] ZHANG Y, LI XY, ZHANG SY, *et al*. Quantitative loop-mediated isothermal amplification detection of *Ustilaginoidea virens* causing rice false smut [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(12): 10388.

[4] LI P, GU G, HOU XW, *et al*. Detoxification of ustiloxin A through oxidative deamination and decarboxylation by endophytic fungus *Petriella setifera* [J]. Toxins, 2025, 17(2): 48.

[5] FU XX, XIE RS, WANG J, *et al*. Development of colloidal gold-based lateral flow immunoassay for rapid qualitative and semi-quantitative analysis of ustiloxins A and B in rice samples [J]. Toxins, 2017, 9(3): 79.

[6] 祭芳, 曹欢, 徐剑宏, 等. 高效液相色谱串联质谱法定量检测稻谷中的稻曲病菌毒素 A 和 D[J]. 中国水稻科学, 2012, 26(2): 246.
JI F, CAO H, XU JH, *et al*. Simultaneous quantitative detection of ustiloxin A and ustiloxin D in rice grains by high performance liquid

chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Rice Science, 2012, 26(2): 246

[7] HU Z, QIAN SA, FAN K, *et al*. Natural occurrence of ustiloxins in rice from five provinces in China and the removal efficiencies of different milling steps [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2023, 103(13): 6272–6279.

[8] MIAO XX, MIAO Y, LIU Y, *et al*. Natural contamination of rice with ustiloxins and the connection with climate conditions in Southern China [J]. Agronomy, 2024, 14(5): 976.

[9] HU Z, DANG Y, LIU CS, *et al*. Acute exposure to ustiloxin A affects growth and development of early life zebrafish, *Danio rerio* [J]. Chemosphere, 2019, 226: 851–857.

[10] ZHANG YK, XU QL, SUN Q, *et al*. Ustiloxin A inhibits proliferation of renal tubular epithelial cells *in vitro* and induces renal injury in mice by disrupting structure and respiratory function of mitochondria [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 448: 130791.

[11] 李炳光. 猪稻曲病饲料中毒的防治[J]. 福建畜牧兽医, 2005(5): 70–71.
LI BG. Prevention and control of feed poisoning caused by pig false smut [J]. Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2005(5): 70–71.

[12] ZHANG GM, LI H, LIU SS, *et al*. Water extract of rice false smut balls activates Nrf2/HO-1 and apoptosis pathways, causing liver injury [J]. Rice Science, 2023, 30(5): 473–485.

[13] CORRALES J, FANG X, THORNTON C, *et al*. Effects on specific promoter DNA methylation in zebrafish embryos and larvae following benzo [a] pyrene exposure [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2014, 163: 37–46.

[14] 黄勖宏, 谢芊雨, 刘尧, 等. 绿茶、乌龙茶和红茶提取物对 2,4-二氯苯氧乙酸诱导的斑马鱼胚胎形态发育毒害的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(14): 308–316.
HUANG XH, XIE QY, LIU Y, *et al*. Effects of green tea, oolong, and black tea extracts on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced embryonic morphological developmental toxicity of zebrafish [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(14): 308–316.

[15] KOISO Y, LI Y, IWASAKI S, *et al*. Ustiloxins, antimitotic cyclic peptides from false smut balls on rice panicles caused by *Ustilaginoidea virens* [J]. The Journal of Antibiotics, 1994, 47(7): 765–773.

[16] LUDUEÑA RF, ROACH MC, PRASAD V, *et al*. Interaction of ustiloxin A with bovine brain tubulin [J]. Biochemical Pharmacology, 1994, 47(9): 1593–1599.

[17] LI Y, KOISO Y, KOBAYASHI H, *et al*. Ustiloxins, new antimitotic cyclic peptides: Interaction with porcine brain tubulin [J]. Biochemical Pharmacology, 1995, 49(10): 1367–1372.

[18] MORISAKI N, MITSUI Y, YAMASHITA Y, *et al*. Synthesis and anti-tubulin activity of ustiloxin D derivatives [J]. The Journal of Antibiotics, 1998, 51(4): 423–427.

[19] RAEKER MÖ, BIENIEK AN, RYAN AS, *et al*. Targeted deletion of the *Danio rerio* obscurin A RhoGEF domain affects heart, skeletal muscle and brain development [J]. Developmental Biology, 2010, 337(2): 432–443.

[20] SPOORENDONK KM, HAMMOND CL, HUITEMA LFA, *et al*. *Danio rerio* as a unique model system in skeletal research: The power of genetics and *in vivo* imaging [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2010, 26(2): 219–224.

[21] DU SJ, FRENKEL V, KINDSCHI G, *et al*. Visualizing normal and defective skeletal development in *Danio rerio* embryos using the fluorescent chromophore calcein [J]. Developmental Biology, 2001, 238(2): 239–246.

[22] 胡政. 稻曲菌素 A 在稻曲病菌中的积累动态及其对动植物的毒理效应[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
HU Z. Ustiloxin A accumulation dynamic in *Ustilaginoidea virens* its toxicity effect on plant and animal [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020.

[23] ANGOM RS, SINGH M, MUHAMMAD H, *et al*. *Danio rerio* as a versatile model for cardiovascular research: Peering into the heart of the matter [J]. Cells, 2025, 14(7): 531.

[24] HARRINGTON JK, SORABELLA R, TERCEK A, *et al*. *Nkx2.5* is essential to establish normal heart rate variability in the zebrafish embryo [J]. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2017, 313(3): R265–R271.

[25] CHEN YM, LI R, SUN JS, *et al*. Genome-wide population structure and selection signatures of yunling goat based on RAD-seq [J]. Animals, 2022, 12(18): 2401.

[26] GRASSINI DR, LAGENDIJK AK, DEANGELIS JE, *et al*. *Nppa* and *Nppb* act redundantly during *Danio rerio* cardiac development to confine AVC marker expression and reduce cardiac jelly volume [J]. Development, 2018, 145(12): dev160739.

[27] DENG A, ZHANG HQ, HU MY, *et al*. The inhibitory roles of *Ihh* downregulation on chondrocyte growth and differentiation [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 15(1): 789–794.

[28] LENTON K, JAMES AW, MANU A, *et al*. Indian hedgehog positively regulates calvarial ossification and modulates bone morphogenetic protein signaling [J]. Genesis, 2011, 49(10): 784–796.

[29] YANG J, ANDRE P, YE L, *et al*. The Hedgehog signalling pathway in skeletal formation [J]. International Journal of Oral Science, 2015, 7(2): 73–79.

[30] HUANG SZ, WANG Y, LUO LF, *et al*. *BMP2* is related to hirschsprung's disease and required for enteric nervous system development [J]. Frontiers in Cellular Neuroscience, 2019, 13: 523.

[31] WU YM, SUN AL, NIE CH, *et al*. Functional differentiation of *bmp2a* and *bmp2b* genes in zebrafish [J]. Gene Expression Patterns, 2022, 46: 119288.

[32] 董乐, 佟广香, 闫婷, 等. 斑马鱼 *ngs* 基因突变对骨骼发育的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2022, 41(7): 1403–1415.
DONG L, TONG GX, YAN T, *et al*. Effects of *ngs* on skeletal development in zebrafish [J]. Genomics and Applied Biology, 2022, 41(7): 1403–1415.

[33] 董乐. *Ngs* 及 *NFkB1* 基因对斑马鱼肌间刺发育的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
DONG L. Effects of *Ngs* and *NFkB1* genes on the development of Intermuscular bones in zebrafish [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022.

[34] GRAY RS, WILM TP, SMITH J, *et al*. Loss of *col8a1a* function during *Danio rerio* embryogenesis results in congenital vertebral malformations [J]. Developmental Biology, 2014, 386(1): 72–85.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)