◆ 开发与分析 ◆

一种新型噻唑烷酮类化合物对植物病原真菌的抗菌活性及其抑菌机制研究

孙思雨，杨廷泽，单志伟，张 芳*，赵洪武，赵维坚，卢 嘉，裴洪玲，王 腾

（北京工业大学化学与生命科学学院，北京 100124）

摘要：通过离体抑菌试验，测定了一种新型噻唑烷酮类抗菌化合物HW27对2种植物病原真菌立枯丝核菌和灰葡萄孢菌的抑菌活性，评估了HW27对立枯丝核菌菌丝体细胞膜完整性的影响，并研究了其对立枯丝核菌的抑菌机制。结果表明，HW27具有抑制植物病原真菌的活性，能破坏真菌细胞膜结构，可能导致DNA和蛋白等物质释放。转录组测序发现，与未用药对照相比，经HW27处理后的立枯丝核菌菌丝可富集到大量差异表达基因，其中控制细胞色素P450、NADH氧化酶等基因及其他基因表达变化与细胞氧化应激过程密切相关。HW27能降低立枯丝核菌细胞抗氧化酶的活性，促使活性氧在细胞内积累，增加细胞氧化损伤风险。因此，推测HW27可能在纹枯病和灰霉病等植物真菌病害防治方面具有潜在应用价值。

关键词：新型噻唑烷酮类化合物；HW27；立枯丝核菌；灰葡萄孢菌；抑菌机制；转录组学

中图分类号：TQ 450.2 **文献标志码**：A doi：10.3969/j.issn.1671-5284.2025.06.004

Antifungal activity and mechanism of thiazolidinone compound HW27 on phytopathogenic fungi

SUN Siyu, YANG Tingze, SHAN Zhiwei, ZHANG Fang*, ZHAO Hongwu, ZHAO Weijian, LU Jia, PEI Hongling, WANG Teng

（College of Chemistry and Life Science, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China）

Abstract: Through in vitro antifungal experiments, the inhibitory activities of a novel thiazolidinone antibacterial compound HW27 against *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea* were investigated, and the integrity of mycelial cell membrane of *R. solani* was evaluated, the antifungal mechanism of HW27 against *R. solani* was revealed. The results showed that HW27 had inhibitory fungal activity. It destroyed the structure of fungal cell membrane, resulting in the release of DNA, protein and other contents. Transcriptome sequencing results showed that a large number of differentially expressed genes were enriched in hyphal samples of HW27-treated *R. solani*, compared with the untreated control group. Among the differentially expressed genes, the expression changes of genes involved in cytochrome P450, NADH oxidase and other genes were closely related to the process of cellular oxidative stress. HW27 could reduce the activity of antioxidant enzymes in fungal cells, promote the accumulation of reactive oxygen species in cells, and increase the risk of oxidative damage to cells. Therefore, it was postulated that HW27 could have potential application value in the control of sheath blight and gray mould.

Key words: novel thiazolidinone compound; HW27; *Rhizoctonia solani*; *Botrytis cinerea*; antifungal mechanism; transcriptomics

21世纪以来，全球人口保持增长态势，粮食需求持续攀升，但因植物病虫害每年导致的全球作物产量损失约为20%～40%[1]。农药作为重要的农用生产资料，在病虫害防治和作物产量提高等方面发挥

收稿日期：2025-05-22
基金项目：企事业单位委托科技项目（40055002202502）
作者简介：孙思雨（2001—），女，河北唐山人，硕士研究生，主要从事纳米生物技术研究。E-mail：ssy20010731@163.com
通信作者：张芳（1976—），女，山西晋中人，博士，副教授，主要从事纳米生物技术研究。E-mail：zhangfang2000@bjut.edu.cn

着关键作用[2]。据统计，全球每年的农药使用量达到460万吨，但约90%的农药在施用后通过喷雾飘移、淋溶和挥发等途径进入环境，并在生态循环中重新分配，最终导致一系列生态环境问题。此外，高毒农药可能会通过食物链进入人体并蓄积，引发慢性疾病或急性中毒；农药残留超标也会引发一系列食品安全问题[3]。因此，开发绿色、高效的农药产品是新农药研究的重要任务，有助于降低环境风险并提高农业生产效率。

噻唑烷酮类化合物是一类以噻唑酮为核心结构的杂环化合物，独特的分子结构赋予了其广谱的药用活性、可修饰的结构特性及多机制作用方式，在医药领域颇受关注[4]。近年来，基于不对称有机催化构建噻唑酮类衍生物成为研究热点，并取得了一些突破性的成果。噻唑酮母核分子上具有多个反应位点，进行系列修饰反应，可制备出多种活性化合物，用于抗肿瘤、抗病毒以及糖尿病等疾病的治疗。El-Miligy等[5]通过对噻唑酮5-位结构进行优化，合成出新型PIM1激酶抑制剂，可诱导细胞凋亡并激活Caspase 3/7通路，有效抑制结直肠癌的发生；Parveen等[6]将吲哚啉酮骨架引入噻唑酮结构，构建的化合物可对白念珠菌具有较好的抑制效果；此外，噻唑烷二酮类化合物可通过激活过氧化物酶体增殖物活化受体γ（PPAR-γ），增强胰岛素敏感性，改善胰岛素抵抗[7]。目前，对该类化合物的研究大多涉及其医用活性，农用活性的报道则相对较少。研究发现，在噻唑酮环上引入不同的修饰基团可显著增强其生物活性，使其作为杀菌剂、杀虫剂以及植物生长调节剂等[8-9]。因此，通过高选择性衍生物结构设计和多靶点作用机制的研究，研发创制绿色农药，为新型杀菌剂的研究设计提供创新性见解。

本课题组在前期工作中通过化学置换法合成了一种新型噻唑烷酮类化合物HW27（图1），相对分子质量范围在300～350。通过引入烷氧基、烷基及芳基等基团，赋予其多种功效。在此基础上，本研究选取2种重要的植物病原真菌——立枯丝核菌和灰葡萄孢菌为研究对象，对其生物活性进行了考察；并以立枯丝核菌为模式生物，结合转录组学技术从分子水平和蛋白水平深入探究了HW27的抑菌机制，旨在为绿色高效农药的创制提供新的思路。

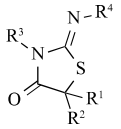


图 1　HW27 的化学结构式

1　材料和方法

1.1　试剂与仪器

HW27原药由本课题组团队合成（质量分数99%）。二甲基亚砜（DMSO）、无水乙醇、葡萄糖、琼脂粉、三氯甲烷（分析纯）、异丙醇（分析纯），均购自上海阿拉丁生化科技有限公司。Trizol试剂盒，购自北京伊诺凯科技有限公司。超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒、过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒，购自北京索莱宝科技有限公司。

S-230型电导率测量仪，瑞士梅特勒-托利多公司；Nikon AX R激光共聚焦扫描显微镜，日本尼康公司；Illumina NovaSeq 6000测序仪，美国因美纳公司；ND-2000微量紫外分光光度计，美国赛默飞公司。

1.2　供试菌株

立枯丝核菌（*Rhizoctonia solani*）和灰葡萄孢菌（*Botrytis cinerea*），购于中国农业微生物菌种保藏管理中心。

1.3　试验方法

1.3.1　抑菌活性测定

采用菌丝生长速率法测定HW27对立枯丝核菌和灰葡萄孢菌的抑菌活性。分别称取125、100、75、50和25 mg HW27原药，溶于1 mL DMSO中，制备成125、100、75、50、25 mg/mL的HW27母液。分别移取15 μL不同质量浓度的HW27母液加入15 mL已融化且冷却至约50℃的马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）中，混匀，倒入直径为9 cm的无菌培养皿中，制备成质量浓度分别为125、100、75、50、25 mg/L的含药PDA平板，以无菌水作为对照，每处理重复3次。在每个平板中央分别接种直径为5 mm的立枯丝核菌和灰葡萄孢菌的菌饼后，于25℃恒温避光培养5 d。待对照组菌落长满后，使用十字交叉法测量菌落直径，根据公式（1）计算HW27对2种植物病原菌菌丝生长的抑制率。通过药剂浓度对数值与抑制率几率值的线性回归分析（IBM SPSS Statistics 27.0.1），构建毒力回归方程$y=a+bx$，并计算相关系数及EC_{50}，评价HW27的抑菌活性。

$$抑制率/\%=\left(1-\frac{处理菌落直径}{对照菌落直径}\right)\times 100 \quad (1)$$

1.3.2　对立枯丝核菌菌丝形态和细胞完整性的影响评估

称取适量HW27，制备质量浓度分别为75、125 mg/L的含药PDA平板，以无菌水加入PDA培养基中制成的平板为对照。在每个平板中央接种1个直径

为5 mm的立枯丝核菌菌饼后，在菌饼四周斜插入盖玻片，并放入恒温培养箱中于25℃培养5 d，待菌丝长满后，用镊子夹取盖玻片放在洁净的载玻片上，在共聚焦激光扫描显微镜下观察菌丝形态并记录。

1.3.3　总RNA的提取和转录组学分析

称取适量HW27，制备质量浓度75 mg/L的含药PDA平板，在表面铺一层半透膜，在膜上接种立枯丝核菌，并放入恒温培养箱中于25℃培养5 d。待菌丝长满后，收集菌丝并立即用液氮冷冻研磨。使用Trizol试剂盒（北京伊诺凯科技有限公司）提取总RNA，并采用ND-2000型微量分光光度计检测质量和纯度。使用纯度及质量符合标准的RNA（$OD_{260/280}$=1.8～2.2，$OD_{260/230}$≥2.0）构建文库。将总RNA进行RNA-seq转录组文库制备和Illumina NovaSeq 6000测序（北京擎科生物有限公司）。使用GATK软件对Illumina RNA-seq数据进行修剪和质量控制。利用Hisat2将clean reads与参考基因组进行序列比对，获取在参考基因组或基因上的位置信息及测序样品的序列特征信息。采用DESeq2软件进行差异显著性分析，将P＜0.05，表达量倍数之比≥2（$|\log_2FC|\geq 1$）作为差异显著性标准。采用KOBAS对差异表达基因进行基因本体论（GO）和京都基因与基因组百科全书（KEGG）分析。

1.3.4　对立枯丝核菌菌丝超氧化物歧化酶（SOD）活性影响的检测

采用超氧化物歧化酶（SOD）试剂盒（北京索莱宝科技有限公司）检测菌丝SOD活性。称取适量HW27，制备质量浓度为75 mg/L和125 mg/L的含药PDA平板，接种立枯丝核菌，在恒温培养箱中于25℃培养5 d。待菌丝长满后，刮取0.1 g新鲜菌丝，加入1 mL提取液进行样本前处理，在8 500 r/min、4℃条件下离心10 min，取上清液。将上清液加入检测工作液中，充分混匀，37℃水浴孵育30 min后，吸取200 μL样本上清液于96孔板中，测定560 nm下的吸光度，记为$A_{测定}$、$A_{对照}$、$A_{1空白}$、$A_{2空白}$。分别根据公式（2）和（3）计算抑制率和SOD活性[10]。

$$抑制率/\%=\left(1-\frac{A_{测定}-A_{对照}}{A_{1空白}-A_{2空白}}\right)\times 100 \quad (2)$$

$$SOD活性/(U/g)=\frac{抑制率\div(1-抑制率)\times V_{反总}\times F}{W\times\frac{V_{样}}{V_{样总}}} \quad (3)$$

式中：$V_{反总}$为反应总体积，0.2 mL；$V_{样}$为加入反应体系中的样本体积，0.02 mL；$V_{样总}$为加入提取液体积，1 mL；W为样本质量，0.1 g；F为样本稀释倍数，1。

1.3.5　对立枯丝核菌菌丝过氧化氢酶（CAT）活性影响的检测

采用过氧化氢酶（CAT）试剂盒（北京索莱宝科技有限公司）检测菌丝CAT活性。称取0.1 g菌丝，加入1 mL提取液进行样本前处理，在8 500 r/min、4℃条件下离心10 min，取上清液。按照试剂盒说明书，从试剂盒中吸取25 μL试剂2缓慢滴加到5 mL的试剂1中，充分混匀，作为检测工作液。在96孔板中分别加入193.2 μL检测工作液与6.8 μL菌丝提取上清液，涡旋5 s。立即在室温下测定240 nm时的初始吸光值A_1和1 min后的吸光值A_2，根据公式（4）计算CAT活性[11]。

$$CAT活性/(U/g)=\frac{(A_2-A_1)\times V_{反总}\div(\varepsilon\times d)\times 106}{W\times\frac{V_{样}}{V_{样总}}}\times T \quad (4)$$

式中：$V_{反总}$为反应体系总体积，2×10^{-4} L；ε为H_2O_2摩尔消光系数，43.6 L/(mol·cm)；d为96孔UV板光径，0.6 cm；$V_{样}$为加入样本体积，0.01 mL；$V_{样总}$为加入提取液体积，1 mL；T为反应时间，1 min；W为样本质量，0.1 g。

1.3.6　对立枯丝核菌菌丝电导率影响的测定

称取适量HW27，制备质量浓度75 mg/L的含药PDA平板，在平板中央接入立枯丝核菌菌饼，每个平板接种1个菌饼，在恒温培养箱中于25℃倒置培养5 d。待平板上菌丝长满后刮取菌丝，用双层纱布过滤，剔除菌饼，用无菌水冲洗2次并真空抽滤20 min。取0.5 g菌丝溶于20 mL蒸馏水中，利用磁力搅拌器（8 000 r/min）混匀，分别在0、5、10、20、40、60、80、100 min时测定其电导率。100 min后，将菌丝置于沸水中煮沸5 min，待冷却后测定其最终电导率值。根据公式（5）计算相对电导率。

$$相对电导率/\%=\frac{不同时间段电导率}{最终电导率}\times 100 \quad (5)$$

1.3.7　对立枯丝核菌菌丝吸光度影响的测定

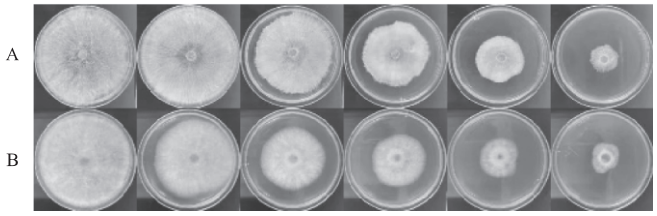
将立枯丝核菌在PDB培养基中于25℃恒温培养5 d，收集菌丝体，用无菌水中洗涤3次。将菌丝体悬浮在含有HW27（质量浓度分别为75、125 mg/L）的无菌水中，于25℃条件下孵育0、4、8、12、24 h，取上清液，用ND-2000微量紫外分光光度计测定在260 nm和280 nm处的吸光度。所有测试重复3次。

2　结果与分析

2.1　HW27对立枯丝核菌和灰葡萄孢菌菌丝生长的抑制作用

如图2所示，HW27对立枯丝核菌和灰葡萄孢菌

菌丝生长的抑制作用随着浓度升高而增强。培养5 d后，125 mg/L的HW27对立枯丝核菌和灰葡萄孢菌菌丝生长的抑制率分别为75.35%和73.97%。根据药剂浓度对数值与抑制率几率值的线性回归分析，得出HW27对立枯丝核菌和灰葡萄孢菌菌丝生长的有效抑制中浓度（EC_{50}）分别为80.30 mg/L和89.06 mg/L。表明HW27对立枯丝核菌和灰葡萄孢菌菌丝生长均具有较强的抑制作用。



A为立枯丝核菌；B为灰葡萄孢菌

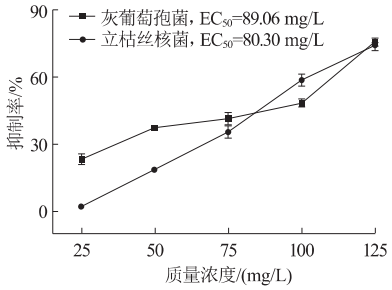


图 2　HW27 对立枯丝核菌和灰葡萄孢菌的抑菌效果

2.2　HW27对立枯丝核菌菌丝生长及显微结构的影响

激光共聚焦扫描显微镜观察结果如图3所示。对照组（未用药处理）中立枯丝核菌菌丝形态完整，表面平滑，在生长过程中不断分枝，形成复杂的菌丝网络。而不同浓度HW27处理组的菌丝形态遭到不同程度的破坏。当HW27质量浓度为75 mg/L时，菌丝出现断裂现象，菌丝细胞壁变形；当质量浓度为125 mg/L时，菌丝出现类似细胞消融和破裂现象，细胞内物质溢出，菌丝形态受到严重破坏。研究结果表明，HW27能够破坏病原真菌细胞结构。

图 3　激光共聚焦扫描显微镜下立枯丝核菌菌丝形态

2.3　HW27对立枯丝核菌菌丝体细胞膜的影响

采用菌丝体电导率来评估HW27对立枯丝核菌菌丝体细胞膜的影响，结果如图4所示。药剂与菌丝体共同培养5 min时，对照组与药剂处理组的相对电导率分别为16.43%与23.01%；随着时间的推移，对照组的相对电导率数值与变化幅度均较小，而药剂处理组的相对电导率显著升高。100 min时，药剂处理组的相对电导率达到54.88%。表明HW27破坏了立枯丝核菌细胞膜结构，导致电解质泄漏，从而增加了电导性。

除相对电导率外，核酸和蛋白质水平通常用作膜通透性参数，以评估细胞膜是否受损。由于核酸和蛋白质分别在260 nm和280 nm处存在紫外最大吸收峰，通过测量吸光度OD_{260}和OD_{280}的变化可评估菌丝体悬浮液中核酸和蛋白质的浓度，结果如图5显示。菌丝体分别用75 mg/L和125 mg/L HW27处理后，OD_{260}和OD_{280}均随药剂浓度提高而增加。药剂处理24 h，其OD_{260}与空白对照组吸光度（0.038）相比，分别增加0.057和0.105；OD_{280}与空白对照组吸光度（0.035）相比，分别增加了0.029和0.091。表明菌丝体中核酸和蛋白质被释放，细胞膜完整性被破坏。

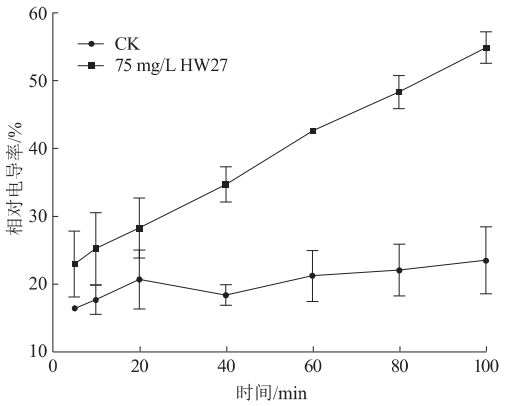
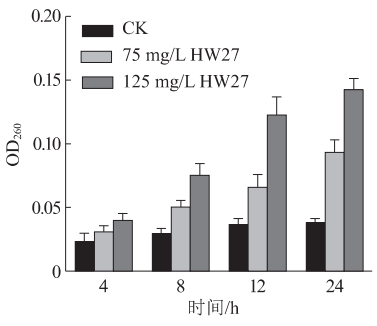
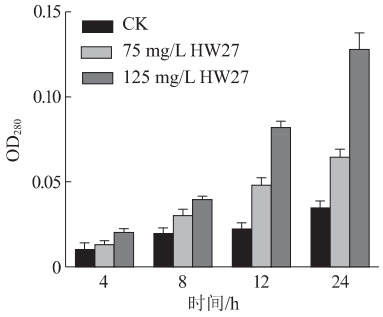


图 4　HW27 处理后菌丝细胞液电导率



a 吸光度OD_{260}的变化



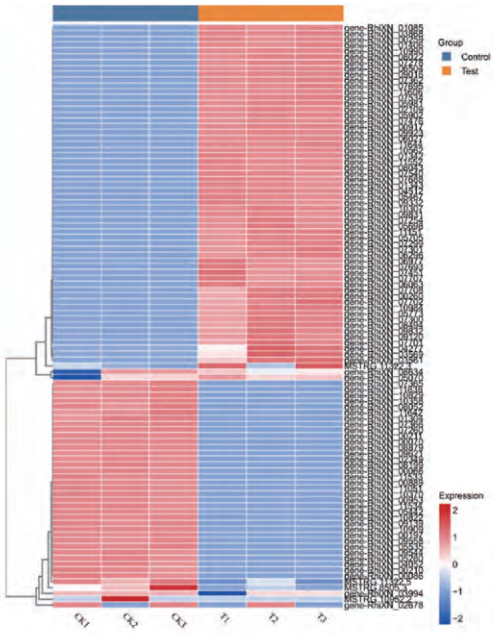
b 吸光度OD_{280}的变化

图 5　HW27处理后菌丝体悬浮液的OD_{260}和OD_{280}

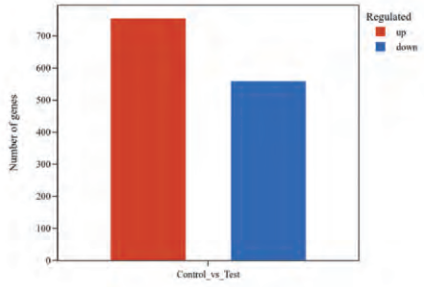
2.4　HW27对立枯丝核菌转录组水平的影响

采用转录组学技术深入探究了HW27对立枯丝核菌的抑菌机制。经Illumina HiSeq测序，共获得276 872 434条clean reads。对照组和药剂处理组的平均数据有效率分别为94.26%和94.32%。对全部样本进行聚类分析，结果如图6a所示。药剂处理组和对照组样本间的表达差异较大，表明两组间基因表达模式存在明显差异。为展示对照组和药剂处理组之间差异显著性基因的整体分布情况，绘制了差异表达基因柱状图（图6b）和火山图（图6c）。结果显示，与对照组相比，HW27处理组共检测出1 314个差异表达基因，其中755个基因上调，559个基因下调。

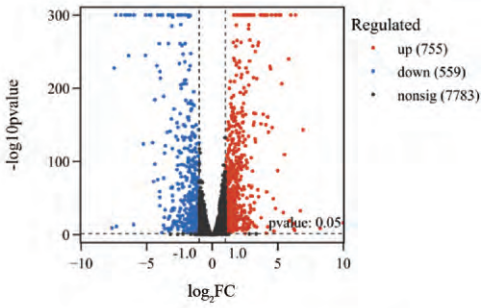
GO是描述基因功能的综合性数据库，包含生物过程、细胞组成和分子功能3个部分。基于GO数据库对得到的差异表达基因进行富集分析，结果如图6d所示。



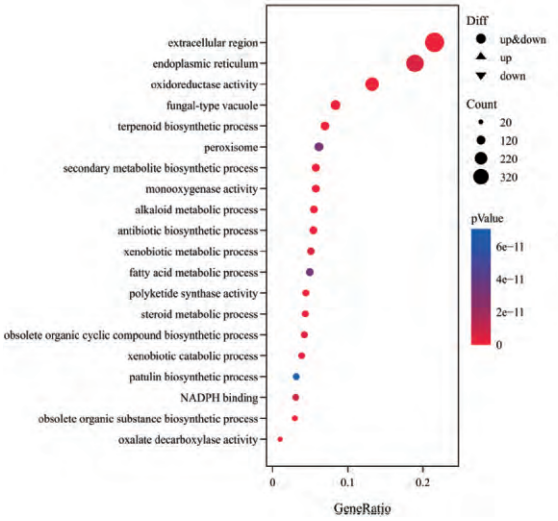
a 聚类分析



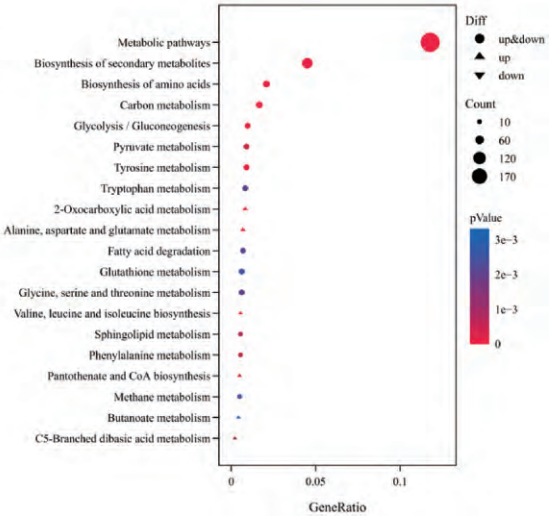
b 差异表达基因柱状图



c 差异表达基因火山图



d 基因富集分析



e 富集差异显著的通路

图 6　HW27 诱导立枯丝核菌基因组的转录水平变化

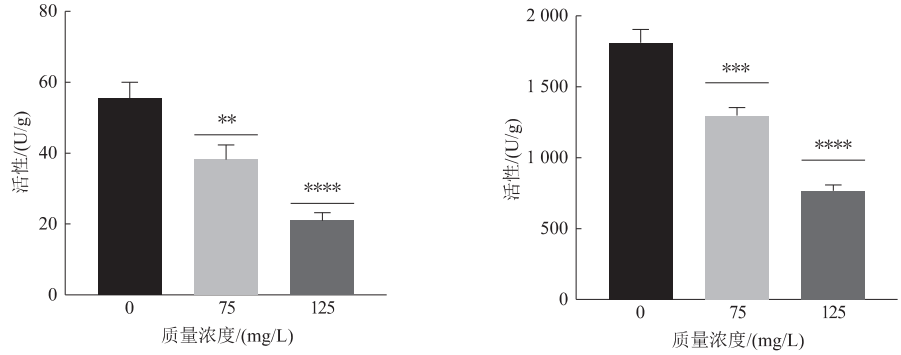
在生物过程类别中，差异表达基因主要富集在生物合成和代谢过程；在细胞组成类别中，差异表达基因主要富集在胞外区域和真菌液泡；在分子功能类别中，差异表达基因主要富集在氧化还原酶活性、单氧酶活性以及聚酮合酶活性。KEGG是系统解析基因功能、基因组信息数据库，它有助于将基因及表达信息作为一个整体网络进行研究。基于KEGG数据库富集分析了HW27诱导立枯丝核菌基因表达通路的变化，共鉴定出86条通路。图6e展示了富集差异最显著的前20条通路，其中包含14条上调通路，6条下调通路。在上调通路中，主要包括代谢途径、次生代谢物的生物合成和氨基酸的生物合成。在下调通路中，2-氧羧酸代谢、氨基酸代谢、泛酸和辅酶A的生物合成是被富集的主要通路。

在富集到的大量差异表达基因中，表达几丁质脱乙酰酶的基因表现上调，该酶通过催化脱乙酰化反应，将几丁质转化为壳聚糖。几丁质脱乙酰酶活性的升高加快了真菌细胞壁的分解，这与菌丝形态学观察结果一致。此外，还富集到大量表达氧化还原反应酶的基因，包括细胞色素P450和NADH氧化酶等基因的上调以及转氨酶、醛脱氢酶和醇脱氢酶等基因的下调。转录组测序结果表明，75 mg/L HW27处理立枯丝核菌后，氧化应激相关基因及其通路发生了显著变化，推测HW27能够调节与立枯丝核菌氧化应激相关酶的活性，降低立枯丝核菌细胞对抗活性氧的能力，从而导致菌丝生长受到抑制。

2.5　HW27对立枯丝核菌氧化应激的影响研究

基于转录组测序结果，对氧化应激途径中关键酶超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）的表达进行了验证，结果如图7所示。

对照组中SOD的活性为55.18 U/g，而75、125 mg/L HW27处理组的SOD活性分别为38.27、20.79 U/g，分别比对照组低了45.67%与62.32%；对照组中CAT的活性为1 745.63 U/g，而药剂处理组的CAT活性分别为1 234.33、743.22 U/g，分别比对照组低了29.29%与57.42%。表明HW27能够降低立枯丝核菌细胞内抗氧化酶的活性，导致立枯丝核菌抵抗氧化应激的能力下降，使活性氧在细胞内积累，增加了细胞氧化损伤的风险。



a SOD活性　　b CAT活性

图 7　立枯丝核菌经不同浓度 HW27 处理后的 SOD 和 CAT 活性

3　讨论

水稻纹枯病是全球水稻产区发生的主要病害之一，每年可导致减产20%～40%[12]。立枯丝核菌是引起该土传病害的主要病原体。灰葡萄孢菌是气传病害灰霉病的病原菌，对全球果蔬和花卉产业产生重大威胁[13]。目前，化学农药防治仍是这些病害的主要防控手段，但过度依赖化学农药会引发抗药性和环境污染。近年来，绿色农药创新与新型杀菌剂研究呈现多维度突破，通过分子设计创新合成新型农药已成为农业病害防控的重要突破方向。基于靶标抑制信号通路并结合高通量的筛选技术，可以显著加速从分子设计到田间应用的转化进程，这些创新不仅提升了农药的选择性和持效期，更推动了植保领域向精准化、绿色化方向发展。

噻唑烷酮类化合物作为新型农药研发的重要骨架，其多靶点作用机制与多基团修饰策略正成为绿色农药创新的热点。通过定向引入烷基、芳基等药效基团，可显著增强对病原菌细胞壁以及氧化还原通路的双重抑制作用，还可通过干扰病原菌几丁质合成和氧化应激途径实现多靶点协同防控。HW27能破坏病原菌的细胞结构，显著抑制菌丝生长，当处理质量浓度为125 mg/L时，其对立枯丝核菌和灰葡萄孢菌的抑制率在70%以上，显著低于已报道的17种噻唑烷酮类化合物（质量浓度为500～1 000 mg/L）[14]。相对电导率是评价细胞膜完整性的

重要生理指标，核酸和蛋白质水平也通常用于评估细胞膜受损程度。完整的细胞膜能有效阻止细胞内大分子物质（如核酸、蛋白质）的外泄，当细胞膜受损后，其屏障功能丧失，导致细胞内物质泄漏到细胞外液体中[15]。HW27处理后菌丝体悬浮液的电导率、核酸和蛋白质含量显著升高，表明HW27能够破坏真菌细胞膜的完整性。

转录组学技术进一步揭示了HW27的抑菌机制。75 mg/L HW27处理的立枯丝核菌与空白对照组相比，出现大量差异表达基因。其中，许多与氧化还原反应相关酶基因显著富集，包括细胞色素P450和NADH氧化酶等基因的上调以及转氨酶、醛脱氢酶和醇脱氢酶等基因的下调，推测HW27抑制真菌生长的机制可能与真菌氧化应激过程有关。氧化应激与氧化还原反应密切相关，当细胞暴露于环境压力、毒素、炎症等外界刺激时，会产生自由基和过氧化物质等活性氧化物，与细胞内的脂质、蛋白质及DNA等生物大分子发生反应，引发氧化损伤，导致细胞结构和功能异常，甚至引发细胞死亡[16]。有机磷类杀虫剂和氯代烃类杀菌剂可诱导产生活性氧化物质，引发真菌体内的氧化应激反应，损害真菌的细胞结构和功能，导致生长受抑甚至死亡。机体通常通过抗氧化系统（包括一些抗氧化酶和分子）来抵御氧化应激，以维持细胞内的氧化还原平衡。例如，SOD能将超氧阴离子转化为毒性较低的物质，如氧气和过氧化氢。CAT能够催化过氧化氢的分解，将其转化为水和氧气，减少细胞内的氧化应激[17]。在转录组测序结果中，这2种酶所在通路在差异表达基因中均被富集，将它们作为靶标进行检测。结果显示，HW27处理后2种酶的活性均显著降低。

4　结论

研究首次通过转录组学技术深入探究了新型噻唑烷酮类抗菌化合物HW27的杀菌功效及抑菌机制。发现HW27能降低立枯丝核菌抗氧化酶的活性，使其细胞抵抗氧化应激的能力下降，细胞内活性氧堆积，引起自由基形成和继发的脂质过氧化反应，导致细胞膜破裂，DNA和蛋白质等物质释放，从而有效抑制立枯丝核菌生长（图8）。

新型噻唑烷酮类化合物HW27具有良好的杀菌活性，且成本低廉，在农业病害防控中具有潜在应用价值，可以作为绿色新杀菌剂进行进一步市场化开发与研究。

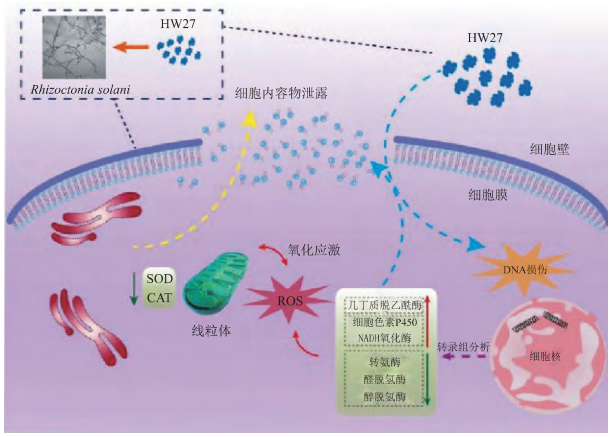


图 8　HW27 对立枯丝核菌菌丝生长的抑菌机制示意图

参考文献

[1] ZHAO X, CUI H, WANG Y. Development strategies and prospects of nano-based smart pesticide formulation[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(26): 6504-6512.

[2] MALALGODA M, SIMSEK S. Pesticide residue in grain-based food: effects on health, grain quality, and chemical properties of biomacromolecules[J]. Cereal Chem, 2020, 98(1): 8-16.

[3] KIM K H, KABIR E, JAHAN S A. Exposure to pesticides and the associated human health effects[J]. Sci Total Environ, 2017, 575: 525-535.

[4] KAUR M S, KAUR R, BHATIA R. Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: a review[J]. Bioorg Chem, 2017, 75: 406-423.

[5] EL-MILIGY M M M, AL-KUBEISI A K, EL-ZEMITY S R. Discovery of small molecule acti ng as multitarget inhibitor of colorectal cancer by simultaneous blocking of the key COX2, 5-LOX and PIM-1 kinase enzymes[J]. Bioorg Chem, 2021, 115: 105171.

[6] PARVEEN S, BABBAR R, BADAVATH V N. Recent insights into synthesis, biological activities, structure activity relationship and molecular interactions of thiazolidinone hybrids: a systematic review[J]. Synthetic Commun, 2024, 54(1): 1-21.

[7] SRIVASTAVA T, GAIKWAD A K, HAQ W. Synthesis and biological evaluation of 4-thiazolidinone derivatives as potential antimyco-bacterial agents[J]. Arkivoc (Ⅱ), 2005(4): 120-130.

[8] DANDIA A, SINGH R, KHATURIA S. Efficient microwave enhanced regioselective synthesis of a series of benzimidazolyl/triazolyl spiro [indole-thiazolidinones] as potent antifungal agents and crystal structure of spiro [3*H*-indole-3,2'-thiazolidine]-3'(1,2,4-triazol-3-yl)-2,4'(1*H*)-dione[J]. Bioorg Med Chem, 2006, 14(7): 2409-2417.

[9] LEVSHIN I B, SIMONOV A Y, LAVRENOV S N. Antifungal thiazolidines: synthesis and biological evaluation of mycosidine

（下转第 39 页）

异辛酯原药，所制原药杂质较多，气相色谱归一法检测结果显示，14.51 min处杂质质量分数约为3.54%。采用优化的精馏条件去除杂质，2甲4氯异辛酯质量分数最高为98.7%（气相色谱归一法），且收率较低，液相色谱定量结果为98.4%。采用柱层析方法制备2甲4氯异辛酯标准品，所制标准品中2甲4氯异辛酯质量分数为99.14%，高于文献报道数据95%[18-20]。该标准品的均匀性及稳定性均符合标准要求，可用于生产、科研及商检。

表6　不确定度的评定结果

因素	不确定度/%
测量$S_{\bar{x}}$	0.02
均匀性S_m	0.15
稳定性S_t	0.19
总不确定度$S_{合}$	0.24
扩展U	0.48

参考文献

[1] 全国标准物质管理委员会. 标准物质通用术语和定义: JJF1005—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[2] 国家标准化管理委员会. 标准物质目录2010年[M]. 北京: 中国计量出版社, 2010.

[3] 林小莹, 梁飞燕, 江秋霞. 农药残留检测实验室标准物质的管理[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(18): 6293-6296.

[4] 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2021[S]. 北京: 中国农业出版社, 2021.

[5] 卢晓华, 薄梦, 吴雪, 等. 标准物质领域发展现状及趋势[J]. 化学试剂, 2022, 44(10): 1403-1410.

[6] 张晓琳, 陈虹. 国内外农药残留标准物质/标准样品现状分析[J]. 中国检验检测，2019(6): 58-61.

[7] 国家市场监督管理总局, 中国计量科学研究院. 国家标准物质资源共享平台[DB/OL]. [2025-03-18]. https://www.ncrm.org.cn/Web/Material/HomeList?term=%E5%91%8B%E8%99%AB%E8%83%BA&pageIndex=1.

[8] 宋敏, 田枫, 路兴涛, 等. 48%双氟磺草胺·氯氟吡氧乙酸·2甲4氯异辛酯悬浮剂对冬小麦田阔叶杂草的防除效果及安全性[J]. 农药, 2015, 54(9): 697-699.

[9] 李玮. 43%双氟磺草胺·2甲4氯异辛酯SC防除春小麦田杂草效果及对作物安全性研究[J]. 现代农药, 2020, 19(1): 50-52.

[10] 常庆喜, 申瑞红. 冬小麦田阔叶杂草防治药效试验报告[J]. 北京农业, 2014(24): 103-104.

[11] 杨微, 张荣宝, 吴宏斌, 等. 36%二氯喹啉酸·2甲4氯异辛酯OD对高粱田杂草防效及安全性[J]. 农药, 2023, 62(3): 231-234.

[12] 聂春林, 梁贵平, 欧晓明, 等. 柱前衍生HPLC法测定2甲4氯异辛酯及代谢物在玉米中的残留[J]. 农药, 2022, 61(3): 203-207.

[13] 董见南, 李雪茹, 刘峰, 等. 小麦中二甲四氯异辛酯残留分析及其代谢物转化研究[J]. 黑龙江农业科学, 2020(12): 99-105.

[14] 许甜甜, 王继东, 史陶中, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定玉米中2甲4氯异辛酯及其代谢物2甲4氯残留[J]. 农药学学报, 2024, 26(6): 1191-1200.

[15] 朱大顺, 魏鹏. 四氯化锡催化合成除草剂2甲4氯异辛酯[J]. 现代农药, 2005, 4(2): 12-13.

[16] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 标准样品工作导则 第3部分 标准样品 定值和均匀性与稳定性评估: GB/T 15000.3—2023[S]. 北京: 中国标准出版社, 2023.

[17] 徐华能. 多菌灵农药标准物质的研制[J]. 农药, 2012, 51(3): 190-192.

[18] 黄亮, 刘芯成, 朱萌萌, 等. 气相色谱-串联质谱法测定灌溉水中二甲四氯异辛酯的残留量[J]. 浙江农业科学, 2017, 58(3): 504-507.

[19] 许艳秋, 高立明, 夏丽娟, 等. 二甲四氯异辛酯·氯氟吡氧乙酸甲基庚酯混剂的气相色谱分析[J]. 农药科学与管理, 2011, 32(4): 35-38.

[20] 张嘉坤, 武宪, 周旭东, 等. 二甲四氯异辛酯及其代谢物二甲四氯在玉米中的残留量及风险评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(20): 7544-7554.

（编辑：顾林玲）

（上接第 27 页）

congeners[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2022, 15(5): 563.

[10] WANG D, NI Y, XIE K. Aquaporin ZmTIP2;3 promotes drought resistance of maize through symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(8): 4205.

[11] HU X H, SHEN S, WU J L. A natural allele of proteasome maturation factor improves rice resistance to multiple pathogens [J]. Nat Plants, 2023, 9(2): 228-237.

[12] 骆丹, 田慧, 张彩霞, 等. 植物立枯丝核菌根腐病研究进展[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(3): 23-31.

[13] 陈乐, 苗则彦, 孙柏欣, 等. 灰霉病菌抗药性研究进展[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(4): 21-30.

[14] 任红敏, 崔彦, 焦艳玲，等. 17种噻唑烷酮类化合物对几种植物病原菌的抑制作用[C]//中国植物保护学会. 植物保护与现代农业——中国植物保护学会2007年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2007: 267-272.

[15] AHMED T, NOMAN M, JIANG H. Bioengineered chitosan-iron nanocomposite controls bacterial leaf blight disease by modulating plant defense response and nutritional status of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Nano Today, 2022, 45: 101547.

[16] XU X, PANG Y, FAN X. Mitochondria in oxidative stress, inflammati on and aging: from mechanisms to therapeutic advances [J]. Signal Transduct Target Ther, 2025, 10(1): 190.

[17] SIES H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine [J]. Redox Biol, 2015, 4: 180-183.

（编辑：顾林玲）