

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20251210004 CSTR: 32064.14.AJE.1673-5897.20251210004

徐明飞, 戴天悦, 章虎, 等. 异丙氟脲唑手性对映体对近头状尖孢藻的胁迫效应[J]. 生态毒理学报, 2026, 21(3): 168-176.

XU M F, DAI T Y, ZHANG H, et al. The stress effects of chiral ipfentrifluconazole enantiomers on *Selenastrum capricornutum* [J]. Asian journal of ecotoxicology, 2026, 21(3): 168-176.

异丙氟脲唑手性对映体对近头状尖孢藻的胁迫效应

徐明飞¹, 戴天悦^{2,3}, 章虎¹, 夏俊³, 金哲雄³, 陶雪昕³, 盛颖霏³, 钱鸣蓉^{3,*}

1. 浙江省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 杭州 310021

2. 浙江工业大学化学工程学院, 杭州 310014

3. 浙江树人学院交叉科学研究院, 杭州 310015

收稿日期: 2025-12-10 录用日期: 2026-01-13

摘要: 研究手性农药对非靶向生物的毒性效应差异, 是提升手性农药安全使用水平的重要基础。设计了新型手性农药异丙氟脲唑的藻类毒性试验以探究其对典型水生生物近头状尖孢藻的立体选择性胁迫效应及氧化损伤作用差异。实验结果表明, Rac-, R-(+)-与 S-(-)-异丙氟脲唑对近头状尖孢藻的 72 h-EC₅₀ 值分别为 0.85、0.68 和 2.44 mg·L⁻¹; 暴露浓度为 0.8 mg·L⁻¹ 和 1.2 mg·L⁻¹ 时, R-(+)-异丙氟脲唑实验组的光合色素水平及氧化损伤指标, 与对照组、S-(-)-对映体实验组均存在显著性差异 ($P < 0.05$), 且高浓度 R-(+)-对映体暴露会显著破坏藻细胞的活性氧平衡。综上, 验证了手性异丙氟脲唑对近头状尖孢藻具有显著立体选择性毒性, 其中 R-(+)-对映体毒性效应显著强于 S-(-)-对映体。该结果可为高效低毒光学纯单体农药的研发与应用提供科学支撑。

关键词: 异丙氟脲唑; 近头状尖孢藻; 急性毒性; 对映体; 氧化损伤

文章编号: 1673-5897(2026)3-168-09 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

The Stress Effects of Chiral Ipfentrifluconazole Enantiomers on *Selenastrum capricornutum*

XU Mingfei¹, DAI Tianyue^{2,3}, ZHANG Hu¹, XIA Jun³, JIN Zhexiong³, TAO Xuexin³, SHENG Yingfei³, QIAN Mingrong^{3,*}

1. Institute of Agro-Product Safety and Nutrition, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China

2. College of Chemical Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China

3. Interdisciplinary Research Academy, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China

Received 10 December 2025 accepted 13 January 2026

Abstract: In order to enhance the environmental safety of chiral pesticides, it is critical to investigate their stereoselective toxicity towards non-target organisms. In this study, an algal toxicity assay was performed by using the novel chiral pesticide ipfentrifluconazole to examine its stereoselective stress effects and oxidative damage on the model aquatic alga *Selenastrum capricornutum*. The results showed that the 72 h-EC₅₀ values for Rac-, R-(+)-, and S-(-)-ipfentrifluconazole were 0.85, 0.68, and 2.44 mg·L⁻¹, respectively. At exposure concentrations of 0.8 and 1.2

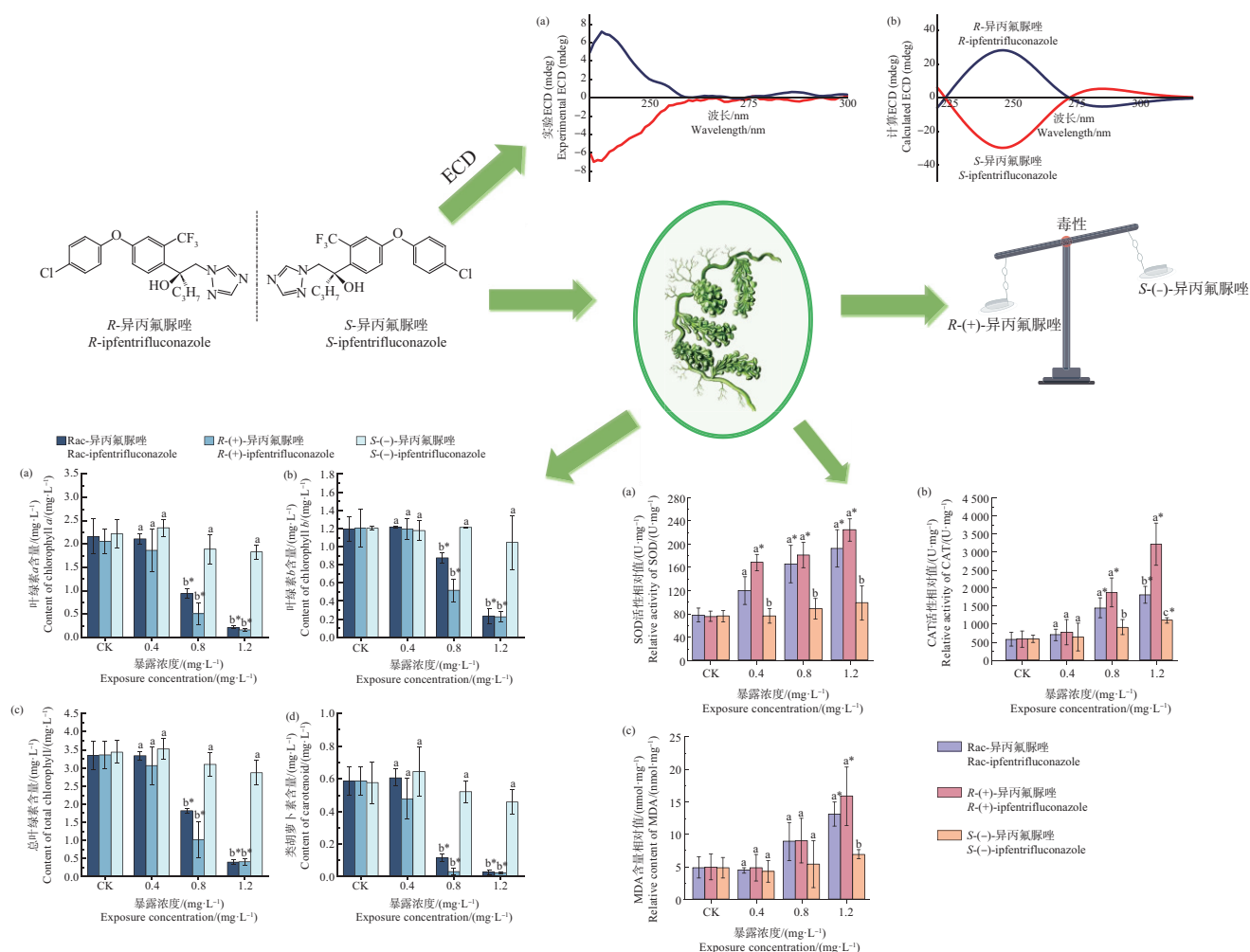
基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-29)

第一作者: 徐明飞(1979—), 男, 硕士, 研究方向为果蔬菜安全生产, E-mail: 280971884@qq.com

* 通信作者 (Corresponding author), E-mail: qianmr@zjsru.edu.cn

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, significant differences ($P < 0.05$) in photosynthetic pigment contents and oxidative damage markers were observed between the *R*-(+)-ipfentrifluconazole treatment groups and either the control or *S*-(-)-enantiomer groups. Moreover, high-concentration exposure to the *R*-(+)-enantiomer markedly disturbed the intracellular reactive oxygen species homeostasis in algal cells. This study confirmed that chiral ipfentrifluconazole exhibits distinct enantioselective toxicity toward *Selenastrum capricornutum*, with the *R*-(+)-enantiomer showing significantly greater toxicity than the *S*-(-)-enantiomer. These findings provide scientific support for the development and application of high-efficiency, low-toxicity and optically pure enantiomer-based pesticides.

Keywords: ipfentrifluconazole; *Selenastrum capricornutum*; acute toxicity; enantiomer; oxidative damage



摘要图

0 引言

数据显示,全球已登记农药活性成分中约 30% 含手性中心,我国市场流通手性农药占比近 40%^[1], 且仍在持续增长。暴露在生态环境中时,部分手性农药对映体由于对手性靶标作用力不同从而表现出差异性行为^[2]。通常表现为仅一种或主要一种立体异构体对靶标活性理想,其余则活性较低,甚至危害非靶标^[3]。因此,探究手性农药不同对映体的生物

活性、选择性及毒性等特性,是推动产业发展、保障生态可持续的关键。

新型三唑类杀菌剂异丙氟脲唑[ipfentrifluconazole, CAS 号: 1417782-08-1; SMARTS 形式: ClC1=CC=C(OC2=CC=C([C@](O)(CCC)CN3C=NN=C3)C(C(F)(F)F)=C2)C=C1], 与氯氟醚菌唑(mefentrifluconazole)由巴斯夫公司于 2012 年先后开发,两者的结构高度相似,具有 1 个碳手性中心,结构式如

图1所示。与氟环唑(epoxiconazole)、戊唑醇(tebuconazole)等多数三唑类杀菌剂类似,属于甾醇生物合成抑制剂,可抑制真菌体内甾醇(如麦角甾醇)的生物合成过程,进而影响细胞膜的正常行为,引起结构与功能完整性破坏,最终导致真菌细胞死亡,发挥杀菌作用^[4],主要登记用于防治葡萄等果树中炭疽病、褐斑病,蔬菜上早疫病、白粉病、靶斑病,粮食作物上小麦白粉病、锈病、赤霉病等病害。

目前针对异丙氟脲唑在对映体层面的环境生态效应研究尚不充分。此前的研究发现异丙氟脲唑会破坏斑马鱼发育进程,诱发多种发育畸形,并可导致成年个体器官功能衰竭,与氯氟醚菌唑相比毒性更强^[5]。且斑马鱼暴露在(+)-异丙氟脲唑 96 h 后的 LC_{50} 为 $1.531 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,相较于(-)-异丙氟脲唑和消旋体毒性更强^[6]。因此研究其生态毒理效应的立体选择性差异具有现实意义。

农药残留对水体的暴露危害与人体健康密切相关^[7],作为水生生物群落的核心初级生产者,藻类是反映接触到的水体环境质量的代表生物体之一^[8-9],其中近头状尖孢藻(*Selenastrum capricornutum*)是一种经济合作与发展组织推荐的标准化测试生物,实验方法趋于成熟且对唑类污染物的指示较其他藻类更敏感^[10]。鉴于此,本文以近头状尖孢藻为对象,开展了异丙氟脲唑对映体暴露的毒性与氧化损伤效应差异研究,以为异丙氟脲唑的科学施用与污染防控提供理论支撑。

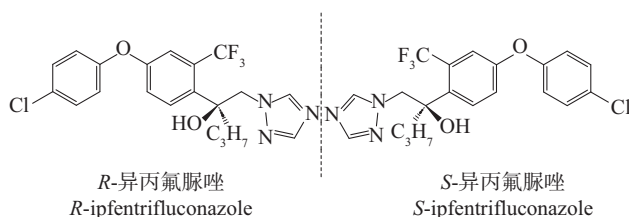


图1 异丙氟脲唑手性结构式

Fig. 1 The structure of ipfentrifluconazole

1 材料与方法

1.1 供试溶剂及仪器

异丙氟脲唑,纯度质量百分数为99.5%(两个对映体的质量比例为1:1),购自中国上海百灵威化学技术公司;异丙氟脲唑2个对映体,纯度 $\geq 98.0\%$,由中国上海勤路生物技术有限公司提供;乙腈、甲醇均为色谱纯,从美国默克公司购置;二甲基亚砜

(DMSO),分析纯,从中国杭州常青化工有限公司购置;氧化应激指标测定采用BCA(Bicinchoninic Acid Assay)法蛋白质浓度测定试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒、过氧化氢酶(catalase, CAT)检测试剂盒和丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒,均从中国上海生工生物工程有限公司购置;Feyond A300型酶联免疫分析仪,购自中国杭州奥盛仪器有限公司;J-1700型圆二色谱仪与P-2000全自动旋光仪,购自日本JASCO公司;JXFSTPRP-24型全自动样品快速研磨仪,购自中国上海净信公司。

1.2 绝对构型的确定

以乙腈作溶剂,分别配制 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的异丙氟脲唑单体溶液,在257 nm波长下用P-2000全自动旋光仪测定各单体旋光性;用圆二色谱仪测定相应的电子圆二色光谱(electron circular dichroism spectrum, ECD),扫描参数设置为:波长范围190~500 nm,扫描速度 $200 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$,重复测定3次。为解析ECD光谱,首先对各单体在乙腈溶液中的优势构象进行几何优化,采用密度泛函理论(density functional theory, DFT)的B3LYP方法完成低能构象结构优化^[11]。基于优化后的基态几何结构,依据电子吸收垂直跃迁机制,进一步利用含时密度泛函理论(time-dependent density functional theory, TDDFT),通过Gaussian 09程序在[B3LYP/6-31+G*]基组水平上计算各电子跃迁的激发态能量与旋转强度,并基于拟合公式模拟计算出ECD谱图^[12-13]。最终,通过对比实验测定与理论计算的圆二色光谱,确定异丙氟脲唑对映体的绝对构型。

1.3 近头状尖孢藻的培养

供试近头状尖孢藻来源于中国科学院水生生物研究所(种库编号为FACHB271),按国家标准GB/T 31270.14—2014^[14]开展藻类生长抑制试验;将近头状尖孢藻放入BG11培养基后,置于环境腔室内,以16 h:8 h的光暗循环、3 000~4 000 lx的光照强度、25℃的温度条件进行培养。当藻细胞达到相对应数生长期时,调节其接种密度为 $3.65 \times 10^4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,分别用异丙氟脲唑对映体及消旋体对近头状尖孢藻进行染毒。

1.4 生长抑制试验

以达到对数生长期的近头状尖孢藻为对象,通过预实验确定了异丙氟脲唑的染毒浓度分别为0.1、1、2.5、5、7.5、10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,每组浓度设置3个平行。

维持培养条件不变,并设置 0.01% DMSO 的溶剂对照实验。于染毒暴露 24、48、72 和 96 h 后测定各组藻类密度,同时计算藻类的平均比生长率和生长抑制率^[15]。

平均比生长率(μ_{ij})(单位为 h^{-1})的计算公式如下所示,比较了不同时期内藻细胞生长率的差异。其中 i 代表起始时间(h), j 代表结束时间(h), X_i 为起始时间 i 的生物量, X_j 为结束时间 j 的生物量。

$$\mu_{ij} = (\ln X_j - \ln X_i) / (t_j - t_i)$$

生长抑制率(I_t)的计算公式如下,由平均比生长率得出药剂在各个时间段的生长抑制作用。其中 μ_c 为对照组各平行平均比生长率(h^{-1}), μ_T 为处理组各平行的平均比生长率(h^{-1})。

$$I_t = (\mu_c - \mu_T) / \mu_c \times 100\%$$

藻细胞增长数量减少达到 50% 的对应浓度被称作 EC_{50} ,去除对照组的结果,通过软件 SPSS27.0.1,采用 probit 线性回归模型计算近头状尖孢藻在不同浓度异丙氟脲唑暴露下的 EC_{50} 以及 95% 置信区间。抑制作用与不同浓度的可决系数通过绘制质量浓度-生长抑制率曲线得到,以此计算回归方程和可决系数(R^2)。

1.5 光合色素含量的测定

以生长抑制试验结果为依据,将达到对数生长期的近头状尖孢藻分别暴露在 0.4、0.8 和 1.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的异丙氟脲唑及其对映体当中,培育 96 h 后取 5 mL 藻液置于离心管,根据文献^[16]测定暴露组和对照组的色素含量:先将样品离心 10 min ($10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),弃除上清,在剩余试样中加入 2 mL 80% 丙酮溶液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光提取 24 h。再离心 10 min ($10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),取上清液于 440、645 和 663 nm 波长下测定光密度(optical density, OD)。叶绿素 a 和 b 、总叶绿素和类胡萝卜素含量的计算公式如下^[17],

其中, C_a 为叶绿素 a 浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), C_b 为叶绿素 b 浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), C_T 为总叶绿素浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), C_K 为类胡萝卜素浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$):

$$C_a = 12.7\text{OD}_{663} - 2.69\text{OD}_{645}$$

$$C_b = 22.9\text{OD}_{645} - 4.68\text{OD}_{663}$$

$$C_T = C_a + C_b = 20.2\text{OD}_{645} + 8.02\text{OD}_{663}$$

$$C_K = 4.70\text{OD}_{440} - 0.27C_{a+b}$$

1.6 蛋白质提取物的制备、蛋白含量及氧化损伤相关指标的测定

与 1.5 实验相同,选择 0.4、0.8 和 1.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三档暴露浓度开展试验,培育 96 h 后取 50 mL 藻液置于离心管中,参照文献方法^[18]提取蛋白,将样品于 $3\,800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,弃除上清液后用磷酸盐缓冲溶液($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH}=7.8$)洗涤两次。将藻组织冷冻后,加入 4 mL 磷酸盐缓冲溶液($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH}=7.8$),用组织破碎仪破碎后于 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,收集上清液,用试剂盒测定其蛋白含量,SOD、CAT 活性及 MDA 含量。

1.7 统计分析

所有实验数据统计分析采用了 Office Excel 和 Origin 8.5,并进一步做出图表分析,差异显著性分析采用 SPSS 27.0.1 软件。

2 结果

2.1 异丙氟脲唑对映体绝对构型的确定

两种异丙氟脲唑对映体的实验与计算 ECD 光谱如图 2 所示,根据两者在 230 ~ 270 nm 间的光谱响应趋势结果,可以发现(+)-异丙氟脲唑与 R -异丙氟脲唑的变化相匹配,(-)-异丙氟脲唑对应了 S -异丙氟脲唑在该波段的变化的响应,从而确定了对映体的绝对构型分别为 R -(+)-异丙氟脲唑与 S -(-)-异丙氟脲唑。

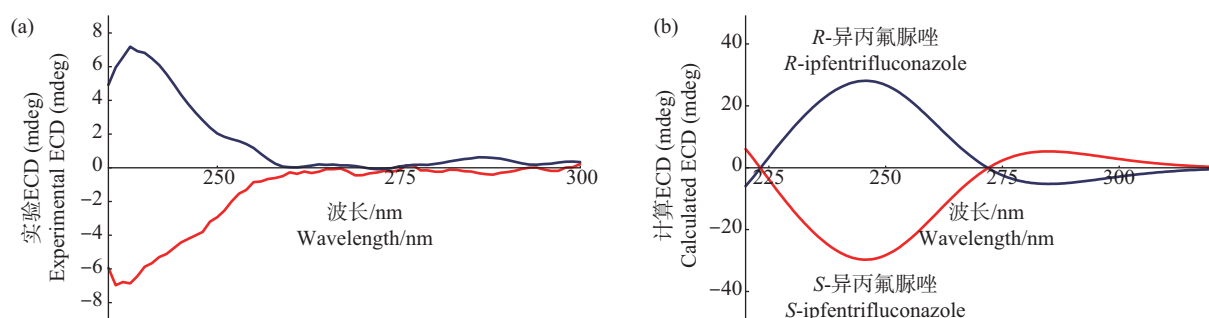


图2 两种异丙氟脲唑单体实验 ECD 图(a)与计算 ECD 图(b)

Fig. 2 Experimentally measured (a) and predicted (b) ECDs of ipfentrifluconazole enantiomers

2.2 近头状尖孢藻的生长抑制试验

如表 1 所示,近头状尖孢藻在异丙氟脲唑及其对映体暴露中分别呈现出不同的效应结果。每隔 24 h 分别取样并检测培养基中相应的异丙氟脲唑浓度,发现药物浓度基本维持不变。如表 1 所示,消旋体对藻抑制的 EC_{50} 范围为 $0.75 \sim 1.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,与其他三唑类杀菌剂如戊唑醇、丙环唑、腈菌唑、丙硫菌唑在 96 h 对近头状尖孢藻抑制的 EC_{50} 值相比(表 2),其毒性相对较强,参照 GB/T 31270.14—2014,异

丙氟脲唑属于中毒等级农药。因此,开展对映体异构体对藻胁迫效应的差异研究对探索如何减少其对水生生物的生态风险有重要意义。同时实验结果显示,两个对映体之间差异较大, $S(-)$ -异丙氟脲唑对近头状尖孢藻生长的抑制 EC_{50} 约为 $R(+)$ -对映体的 3.58 倍~10.5 倍,消旋体的效应受 $R(+)$ -对映体影响较大,两者的 EC_{50} 比值为 1.21~1.4。异丙氟脲唑及其两个对映体对藻的急性毒性顺序为 $R(+)$ -对映体> Rac -消旋体> $S(-)$ -对映体。

表 1 异丙氟脲唑及其对映体对近头状尖孢藻的 EC_{50} 及 95% 置信区间

Table 1 The EC_{50} and 95% confidence intervals of Rac -ipfentrifluconazole and its enantiomers to *S. capricornutum*

时间/h	化合物	$EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	95% 置信区间/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	回归方程	R^2
24	Rac -异丙氟脲唑	1.12	0.049 ~ 3.835	$y=0.81x-0.09$	0.96
	$R(+)$ -异丙氟脲唑	0.50	0.001 ~ 1.805	$y=0.60x+0.17$	0.90
	$S(-)$ -异丙氟脲唑	5.30	4.337 ~ 6.274	$y=4.52x-3.36$	0.99
48	Rac -异丙氟脲唑	1.10	0.053 ~ 3.532	$y=0.49x-1.10$	0.96
	$R(+)$ -异丙氟脲唑	0.91	0.250 ~ 1.881	$y=1.11x-0.02$	0.96
	$S(-)$ -异丙氟脲唑	4.49	2.668 ~ 7.103	$y=2.31x-1.68$	0.99
72	Rac -异丙氟脲唑	0.85	0.412 ~ 1.405	$y=1.26x+0.05$	0.99
	$R(+)$ -异丙氟脲唑	0.68	0.260 ~ 1.247	$y=1.15x-0.08$	0.99
	$S(-)$ -异丙氟脲唑	2.44	0.758 ~ 5.809	$y=1.34x-0.43$	0.88
96	Rac -异丙氟脲唑	0.75	0.306 ~ 1.340	$y=1.18x+0.14$	0.98
	$R(+)$ -异丙氟脲唑	0.64	0.259 ~ 1.113	$y=1.27x+0.22$	0.99
	$S(-)$ -异丙氟脲唑	2.13	0.015 ~ 8.803	$y=1.37x-0.43$	0.89

注:回归方程中,因变量 y 代表概率,自变量 x 为浓度的自然对数(ln)。

表 2 常用三唑类杀菌剂对近头状尖孢藻 96 h 暴露的 EC_{50} 值

Table 2 The EC_{50} values of common triazole fungicides to *S. capricornutum* with 96 h exposure

化合物	96 h- $EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
丙硫菌唑	2.34 ^a
异丙氟脲唑	0.75
苯醚甲环唑	0.9 ^[19]
戊唑醇	8.6 ^b
丙环唑	4.4 ^[20]
腈菌唑	29.7 ^[20]

注:^{a,b} 数据分别来自 US EPA 报告#46246105 和#440796-01。

2.3 藻光合色素含量

如图 3 所示,低浓度暴露时,异丙氟脲唑及其对映体对藻胁迫后,与对照组相比,叶绿素 a 、叶绿素 b 、总叶绿素和类胡萝卜素水平均无显著差异($P>0.05$)。 $S(-)$ -对映体实验组在中、高浓度对藻胁迫

后,各类色素水平随浓度升高呈下降趋势;消旋体和 $R(+)$ -对映体实验组在中、高浓度对藻胁迫后,各类色素显著低于对照组($P<0.05$),且与 $S(-)$ -对映体实验组有显著差异。中浓度 $R(+)$ -对映体暴露后,叶绿素 a 、 b ,总叶绿素和类胡萝卜素水平分别降至对照组的 23%、43%、31%、5.2%,高浓度暴露后,各类色素水平分别降至对照组的 7.3%、21%、12%、4.0%。

2.4 氧化损伤效应

2.4.1 抗氧化酶活性检测

图 4(a)为超氧化物歧化酶(SOD)的差异条状图。对于 $S(-)$ -对映体实验组,三档浓度胁迫下藻细胞内 SOD 活性与对照组均无显著性差异;而 $R(+)$ -对映体和消旋体实验组在低浓度暴露时的 SOD 活性显著提高,与 $S(-)$ -对映体实验组存在显著性差异($P<0.05$),且 $R(+)$ -对映体实验组的活性增幅更大,与对照组也存在显著性差异($P<0.05$);中、高浓度暴露时, $R(+)$ -对映体、消旋体实验组的 SOD 活性,与

对照组和 *S*(-)-对映体实验组对比均有显著性差异 ($P<0.05$); 高浓度暴露时, *R*(+)-对映体和消旋体 SOD 水平分别升高至对照组的 5.2 倍和 4.3 倍。

图 4(b)为过氧化氢酶(CAT)活性的差异条状图。低浓度暴露下各实验组间、实验组与对照组间的 CAT 活性均无显著性差异; *S*(-)-对映体仅在高浓度暴露时藻细胞 CAT 活性与对照组相比有显著性差异 ($P<0.05$), 但增幅有限; 中、高浓度暴露下, *R*(+)-对映体、消旋体实验组与对照组和 *S*(-)-对映体实验组间均有显著性差异 ($P<0.05$); 且高浓度暴露下 *R*(+)-对映体实验组的 CAT 活性增幅大, 升高至对照组的 7.5 倍, 与消旋体组也存在显著性差异 ($P<0.05$)。

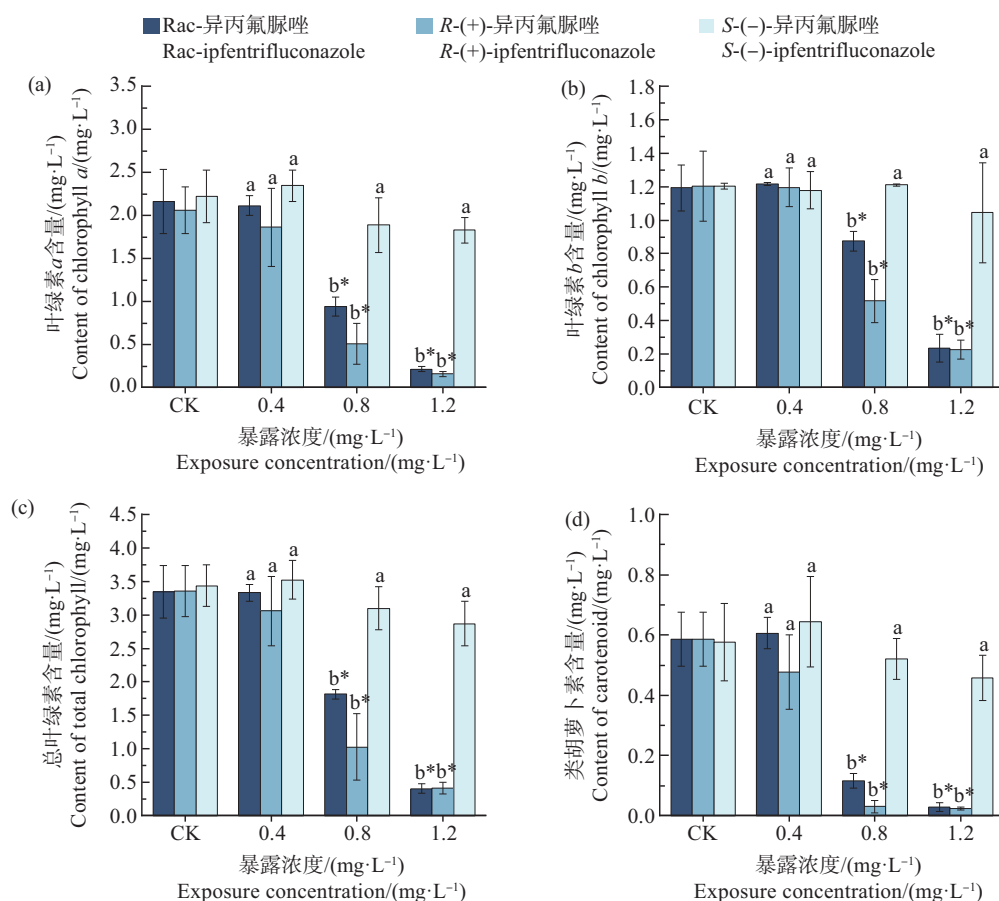
2.4.2 丙二醛(MDA)含量测定

图 4(c)为 MDA 含量的差异条状图, 不同浓度的异丙氟脲唑及对映体对近头状尖孢藻的 MDA 含

量产生了不同影响。 *S*(-)-对映体三档浓度暴露组的藻细胞 MDA 水平与对照组均无显著差异; *R*(+)-对映体、消旋体在高浓度暴露时对藻细胞 MDA 水平的影响显著强于 *S*(-)-对映体和对照组 ($P<0.05$), 分别升高至对照组的 3.3 倍和 2.7 倍。

3 讨论

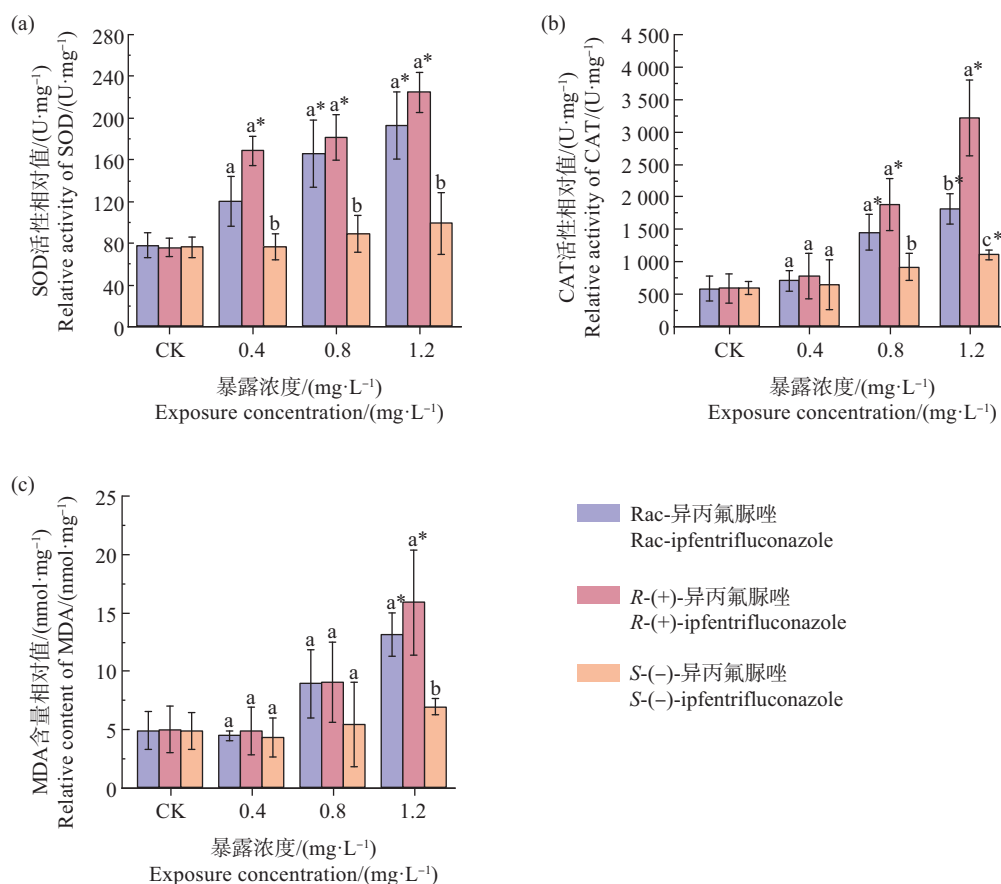
本研究系统探究了异丙氟脲唑及其对映体对近头状尖孢藻的毒性与氧化损伤作用差异, 结果发现在异丙氟脲唑胁迫条件下藻细胞数量呈下降趋势, 表现出典型的质量浓度-生长抑制率关系。 *R*(+)-对映体的 72 h-EC₅₀ 值 0.68 mg·L⁻¹ 显著低于 *S*(-)-对映体 2.44 mg·L⁻¹, 参照 GB/T 31270.14—2014 中农药对藻的中毒等级浓度范围(0.3 ~ 3 mg·L⁻¹), 该数值接近此区间的下限阈值, 这种毒性效应的差异值得进一步探究与关注。



注: 相邻条柱上不同的小写字母, 代表不同化合物相同浓度对藻胁迫结果有显著性差异; * 表示暴露组与对照组之间有显著性差异; 显著性水平 $P<0.05$, 重复数 $n=3$; 下同。

图3 不同浓度 *Rac*-异丙氟脲唑、*R*(+)-、*S*(-)-对映体胁迫 96 h 后藻细胞色素含量

Fig. 3 Photosynthetic pigment contents of algal cells after 96 h exposure to *Rac*-ipfentrifluconazole and its *R*(+)-, *S*(-)-enantiomers at different concentrations



注: SOD 活性、CAT 活性和 MDA 含量以单位质量的蛋白计量。

图 4 暴露于 Rac-异丙氟脲唑、R-(+)-、S-(-)-对映体 96 h 后藻细胞的 SOD、CAT 和 MDA 相对值

Fig. 4 Relative values of SOD, CAT and MDA of algal cells measured after 96 h exposure to Rac-ipfentrifluconazole and its R-(+)-, S-(-)-enantiomers

光合色素是植物光合作用里承担光能吸收、传递功能,且参与原初光化学反应的核心物质。当植物细胞遭遇有机污染物、重金属等胁迫时,光合色素含量会产生变动,进而对植物生长发育造成影响^[21]。测定结果显示,暴露在中、高浓度的消旋体或 R-(+)-异丙氟脲唑的近头状尖孢藻,其光合色素水平与对照组存在显著性差异。该现象与手性环唑醇在高浓度暴露条件下对蛋白核小球藻(*Chlorella. pyrenoidosa*)表现出的选择性毒性效应具有相似性。推测其作用机制为:消旋体和 R-(+)-对映体诱导了藻细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的大量生成,进而引发光合色素的脂质过氧化分解^[22],而 S-(-)-对映体的暴露浓度可能尚未达到显著抑制藻细胞色素合成的毒性阈值,最终导致手性异丙氟脲唑呈现出立体选择性光合抑制作用。值得注意的是,高浓度消旋体暴露组的藻细胞色素水平略高于 R-(+)-对映体单独暴露组,这表明两种对映体共存时,其对藻

细胞色素含量的影响并非简单的效应叠加,而是存在协同作用,从而进一步增强了对藻类的胁迫效应。

氧化应激相关指标的分析显示,藻细胞内循环的氧化系统是它赖以生存的内环境。SOD、CAT 等相关活性氧清除酶是该系统的重要调节中枢和维持生命行为的重要组成部分^[23]。SOD 可通过催化超氧阴离子自由基(O_2^-)转化为过氧化氢(H_2O_2),抑制 O_2^- 的积累;CAT 则能进一步将 H_2O_2 降解为水(H_2O)和氧气(O_2),减少氧化损伤。当 ROS 过量积累时,SOD 与 CAT 等相关酶抗氧化能力无法达到动态平衡,使其活性异常波动。过量的 ROS 会扩散到藻细胞膜内破坏氧化脂类双键,引发膜脂质过氧化链式反应,丙二醛(MDA)作为这一反应的重要次级产物,常被用作衡量氧化应激程度的重要指标^[24]。

在 R-(+)-异丙氟脲唑处理组中,SOD 活性变化具有统计学显著性($P < 0.05$),且活性随药物浓度升高而递增。R-(+)-对映体胁迫下,藻类细胞中 ROS

的产生和清除平衡受到干扰,导致 ROS 过度积累,引发膜脂过氧化,增加藻类脂质过氧化产物和氧化应激,破坏膜系统和功能,增加膜通透性,最终导致死亡率高。中、高浓度 *R*-(+)-异丙氟脲唑处理组的 CAT 活性同样显著升高($P<0.05$),表明该对映体在一定程度上激活了藻细胞后续的氧化损伤防御通路。此外,高浓度 *R*-(+)-异丙氟脲唑处理组检测出较高的 MDA 含量,推测能够在细胞中引发 MDA 过剩的原因可能是富余 ROS 超出了抗氧化系统所能转换的范围,剩余 ROS 引发膜脂质过氧化。与之形成对比的是,藻细胞暴露在各浓度 *S*-(-)-异丙氟脲唑中与对照组的 SOD 活性无显著差异,说明近头状尖孢藻暴露在各浓度 *S*-(-)-异丙氟脲唑高浓度组下仍能维持 ROS 的正常平衡。因此,综合异丙氟脲唑两种对映体及其消旋体对藻细胞抗氧化酶活性及 MDA 含量的影响数据,*R*-(+)-对映体引起的氧化损伤程度显著高于 *S*-(-)-对映体。该结果与异丙氟脲唑对映体对斑马鱼的选择性毒性效应一致^[6],结合已报道的丙硫菌唑等手性三唑类对藻的毒性效应差异^[25],说明此类手性农药的立体选择性生态毒性效应不容忽视。

4 结束语

综上,本文首先通过圆二色谱法明确了异丙氟脲唑两个对映体的绝对构型,随后通过急性毒性测试获取了异丙氟脲唑及其对映体对近头状尖孢藻的 72 h-EC₅₀ 和 96 h-EC₅₀,并测定了不同浓度处理下藻细胞的光合色素含量与氧化损伤相关指标。最终明确三者对近头状尖孢藻的毒性排序为 *R*-(+)-异丙氟脲唑>异丙氟脲唑(消旋体)>*S*-(-)-异丙氟脲唑,且 *R*-(+)-异丙氟脲唑对藻细胞光合色素及氧化损伤水平的影响显著强于 *S*-(-)-对映体。这为后续通过单一构型的异丙氟脲唑使用从而减少环境生态风险提供了理论基础。

通信作者简介:钱鸣蓉(1979—),女,博士,教授,主要研究方向为污染物分析与风险评估。

5 参考文献

- [1] JI C Y, SONG Z D, TIAN Z L, et al. Enantioselectivity in the toxicological effects of chiral pesticides: a review[J]. Science of the total environment, 2023, 857: 159656.
- [2] GUO P L, AN X K, PAN X L, et al. Rational understanding of chiral fungicide penthiopyrad stereoselectivity: bioactivity, aquatic toxicity and cytotoxicity[J]. Science of the total environment, 2023, 905: 166969.
- [3] HE R J, GUO D, HUANG Z, et al. Systematic investigation of stereochemistry, stereoselective bioactivity, and antifungal mechanism of chiral triazole fungicide metconazole[J]. Science of the total environment, 2021, 784: 147194.
- [4] ZHANG Z X, GAO B B, HE Z Z, et al. Stereoselective bioactivity of the chiral triazole fungicide prothioconazole and its metabolite[J]. Pesticide biochemistry and physiology, 2019, 160: 112-118.
- [5] LI Y H, LIANG H W, REN B, et al. Enantioselective toxic effects of mefentrifluconazole in the liver of adult zebrafish (*Danio rerio*) based on transcription level and metabolomic profile[J]. Toxicology, 2022, 467: 153095.
- [6] XU M F, HUANG Y L, QIAN M R, et al. Effects of the novel triazole fungicide ipfentrifluconazole on different endpoints in zebrafish larvae[J]. Toxics, 2025, 13 (10): 830.
- [7] HEO Y, KIM M Y, CHO J Y. *Chlorella vulgaris*, a representative edible algae as integrative and alternative medicine[J]. Integrative medicine research, 2026, 15 (1): 101228.
- [8] DAYANA PRIYADHARSHINI S, SURESH BABU P, MANIKANDAN S, et al. Phycoremediation of wastewater for pollutant removal: a green approach to environmental protection and long-term remediation[J]. Environmental pollution, 2021, 290: 117989.
- [9] KAI S O J, MYINT M, TAN C F, et al. Is green algae polysaccharide a 'green path' to health [J]. Algal research, 2025, 91: 104268.
- [10] 黄永香, 郭蒂洁, 覃礼堂, 等. 唑类杀菌剂混合物对近头状尖孢藻的毒性相互作用评估[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(6): 76-95.
- [11] HUANG Y X, GUO D J, QIN L T, et al. Assessment of toxicity interactions of azole fungicides mixtures on *Raphidocelis subcapitata*[J]. Asian journal of ecotoxicology, 2024, 19(6): 76-95.
- [12] RANJBAR B, GILL P. Circular dichroism techniques: biomolecular and nanostructural analyses: a review [J]. Chemical biology & drug design, 2009, 74(2): 101-120.
- [13] 张春艳, 刘志伟, 苟高章, 等. 氟环唑对映体绝对构型的确定及残留分析方法研究[J]. 分析化学, 2018, 46 (11): 1778-1784.
- [14] ZHANG C Y, LIU Z W, GOU G Z, et al. Study of absolute configuration and residue analysis method for epoxiconazole enantiomers [J]. Chinese journal of analytical

- chemistry, 2018, 46(11): 1778-1784.
- [13] XIA W T, HE Z Z, HU K M, et al. Simultaneous separation and detection chiral fenobucarb enantiomers using UPLC-MS/MS[J]. SN applied sciences, 2019, 1(7): 795.
- [14] 农业部. 化学农药环境安全评价试验准则 第14部分: 藻类生长抑制试验: GB/T 31270.14—2014[S]. 北京: 农业部, 2014: 6-21.
- [15] TAI R E, OGURA I, OKAZAKI T, et al. Algal growth inhibition test with TEMPO-oxidized cellulose nanofibers [J]. NanoImpact, 2024, 34: 100504.
- [16] FATHY W A, MOHAMED M Y A, ALSHERIF E A, et al. Detoxification of fenoxaprop-P-ethyl herbicide: a study on physiological and metabolic adaptation of *Anabaena laxa* and *Nostoc muscorum*[J]. Journal of basic microbiology, 2026, 66(1): e70109.
- [17] QIAN L, QI S Z, CAO F J, et al. Toxic effects of boscalid on the growth, photosynthesis, antioxidant system and metabolism of *Chlorella vulgaris*[J]. Environmental pollution, 2018, 242: 171-181.
- [18] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [19] 庄吉阳, 吴慧珍, 钱鸣蓉, 等. 苯醚甲环唑和手性苯醚甲环唑醇对近头状尖胞藻的胁迫效应[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(6): 335-343.
- ZHUANG J Y, WU H Z, QIAN M R, et al. The stress effects of difenoconazole and chiral difenoconazole-alcohol on *Selenastrum capricornutum*[J]. Asian journal of ecotoxicology, 2024, 19(6): 335-343.
- [20] NONG Q Y, LIU Y A, QIN L T, et al. Toxic mechanism of three azole fungicides and their mixture to greenalga *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Chemosphere, 2021, 262: 127793.
- [21] WANG M X, ZHANG Y X, GUO P Y. Effect of florfenicol and thiamphenicol exposure on the photosynthesis and antioxidant system of *Microcystis flos-aquae*[J]. Aquatic toxicology, 2017, 186: 67-76.
- [22] ZHANG W J, CHENG C, CHEN L, et al. Enantioselective toxic effects of cyproconazole enantiomers against *Chlorella pyrenoidosa*[J]. Chemosphere, 2016, 159: 50-57.
- [23] ZHANG W J, TENG M M, CHEN L. A review on the enantioselective distribution and toxicity of chiral pesticides in aquatic environment[J]. Environmental geochemistry and health, 2024, 46(9): 317.
- [24] ABDELSALEHEEN O, KORTET R, VORNANEN M. Species-specific differences and temperature-dependence of Na^+/K^+ -ATPase in freshwater mussels *Anodonta anatina* and *Unio tumidus* (Bivalvia: Unionidae)[J]. Comparative biochemistry and physiology part A: molecular & integrative physiology, 2024, 296: 111698.
- [25] XIANG Q Q, ZHOU Y, TAN C X. Enantioselective toxic effects of prothioconazole toward *Scenedesmus obliquus* [J]. Molecules, 2023, 28(12): 4774. ◆