

董瑜,郭伟,任浩,等.防治烟草黑胫病的微胶囊药剂制备及持效期[J].江苏农业科学,2016,44(2):166-170.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.047

防治烟草黑胫病的微胶囊药剂制备及持效期

董瑜^{1,2},郭伟³,任浩⁴,孔凡玉¹,冯超¹

(1. 中国农业科学院烟草研究所,山东青岛 266101; 2. 中国农业科学院研究生院,北京 100081;

3. 吉林烟草有限责任公司,吉林延吉 133001; 4. 山东中烟工业有限责任公司,山东青岛 266101)

摘要:以密胺树脂为囊壁,采用原位聚合法将 4 种有效防治烟草黑胫病的杀菌剂制备成微胶囊,并测其相关性能表征,结果表明,各原药微胶囊包覆完好,致密,粒径大小适宜,分布均匀,高效液相色谱和红外分析显示,各原药微胶囊包覆率高且成分结构未发生改变。温室盆栽试验表明,15% 甲霜灵微胶囊悬浮剂、60% 甲霜灵微胶囊粉剂、60% 烯酰吗啉微胶囊粉剂的防效高于常规药剂 72% 甲霜灵·锰锌可湿性粉剂、50% 烯酰吗啉可湿性粉剂,持效期长达 35 d 以上,在生产中有较好的应用前景。

关键词:杀菌剂;微胶囊;性能表征;盆栽;烟草黑胫病

中图分类号: S435.72 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)02-0166-04

微胶囊技术是指将芯材(固体、液体或气体)包裹在囊壁材料中,形成直径几微米至几百微米微小容器(即微胶囊)的技术,与常规农药剂型相比,微胶囊制剂具有持效期长、农药有效利用率高、可减少或避免农药因外界环境造成的分解流失、降低农药对环境污染等特点^[1-2]。烟草黑胫病是世界烟草生产中危害最严重的病害之一,也是中国烟草的主要病害^[3],其病原为烟草疫霉,破坏性极强,大田侵染后常造成烟株成片凋萎死亡^[4]。目前生产上防治烟草黑胫病仍以药剂防治为主。农业上常用的药剂有甲霜灵、烯酰吗啉、乙磷铝等,这类内吸性杀菌剂可通过植物疏导进入发病部位,抑制孢子囊、孢子萌发,从源头上控制菌丝体的形成生长。由中国农业大学理学院、中国农业科学院植物保护研究所联合开发的丙烯酰胺类杀菌剂丁吡吗啉是我国具有自主知识产权的创新农药品种,经温室及大田试验,丁吡吗啉能有效防治烟草黑胫病^[5]。拜耳作物科学公司开发的氟吡菌胺是具有独特作用机理的新型苯甲酰胺类杀菌剂,主要用于防治卵菌病害如霜霉病、疫病等,主要作用于细胞膜上的类血影蛋白,使类血影蛋白发生移位表现杀菌活性,与目前常用药剂如甲霜灵、烯酰吗啉等作用机制不同,且无交互抗性^[6-7]。但此类剂型的化学药剂存在高毒、持效期短、残留量大、易污染土壤及水源等通病,且目前关于防治烟草黑胫病的微胶囊杀菌剂研究尚未见报道。本试验对上述药剂进行微胶囊化,并测定其防治效果、持效期,有效解决杀菌剂使用过程中因其吸附性低、流动性强造成的残留污染、药效短等问题,并减缓植物抗药性的产生,旨在为杀菌剂类农药新剂型的开发及其在烟草病害防治上的应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

烟草品种:小黄金 1025(中国农业科学院烟草研究所)。供试菌株:烟草黑胫病菌(0 号小种),保存于中国农业科学院烟草研究所。供试药剂:96% 甲霜灵原药(扬州科林化学制品有限公司),98.3% 烯酰吗啉原药(扬州科林化学制品有限公司),95% 氟吡菌胺原药(广西南宁广猷农业化工有限公司),丁吡吗啉原药(质量分数≥99%,中国农业大学),72% 甲霜灵·锰锌可湿性粉剂(江苏利民化工有限责任公司),50% 烯酰吗啉可湿性粉剂(江苏龙灯化学有限公司)。试剂:多种非离子表面活性剂和阴离子表面活性剂复配物(农乳 0203)、亚甲基双萘磺酸钠 NNO、烷基萘磺酸盐甲醛 tersperse 2425、37.0%~40.0% 甲醛、三聚氰胺、二甲苯、氯化铵、氢氧化钠、碳酸钠、盐酸、黄原胶、乙二醇等均为分析纯试剂;甲醇、乙腈为色谱纯,均购于国药集团化学试剂有限公司。仪器:Agilent 1220 infinity LC 高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司];LC-10AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);PHS-3D 功能型 pH 计(上海三信仪表厂);DP-02 型激光粒度分析仪(珠海欧美克仪器有限公司);NIKON Eclipse E100 双目显微镜(上海普赫光电科技有限公司);85-2A 型数显恒温测速磁力搅拌器、JJ-1 精密增力电动搅拌器(江苏金坛荣华仪器制造有限公司);ZNHW 型智能控温仪(上海腾方仪器设备有限公司);Pulverisette 6 单罐行星式高能球磨机(上海人和科学仪器有限公司);Hitachi S-3400N 扫描电子显微镜(株式会社日立制作所);美国 Nicolet-380 型傅立叶变换红外光谱仪(KBr 压片)(美国热电集团)。

1.2 方法

1.2.1 微胶囊的制备

1.2.1.1 密胺树脂预聚体的制备过程 按 Yuan 等的方法^[8]制备密胺树脂预聚体。在锥形瓶中加入三聚氰胺和甲醛(摩尔比 1:2),用碳酸钠调节 pH 值到 8.5~9.0,升温至 70℃,密闭搅拌,反应 10 min 后获得密胺树脂预聚物水溶液。

收稿日期:2015-01-07

基金项目:福建省南平市科技项目(编号:201203)。

作者简介:董瑜(1989—),男,山东济宁人,硕士,主要从事烟草病害防治研究。E-mail:dongyu915101089@163.com。

通信作者:孔凡玉,研究员,硕士生导师,主要从事植物病理学研究。

Tel:(0532)88701526;E-mail:kongfanyu123@163.com。

1.2.1.2 微胶囊水悬浮剂的制备 在装有搅拌器的三口圆底烧瓶中加入甲霜灵原药(15.625 0 g)和二甲苯(27.0 g),磁力搅拌器搅拌均匀后加入2.5 g助剂0203,充分振荡形成稳定的O/W乳液,加入42.0 g密胺树脂预聚体,调节转速至400 r/min,2 h内加入稀盐酸缓慢调节pH值至4.2,后加入2 g氯化铵固化囊壁0.5 h,加入氢氧化钠调节pH值至6.5~7.0,加入2 g分散剂NNO,再加入0.2 g黄原胶、4 g乙二醇,用水将体系总质量补足至100 g,混合均匀即得到15%甲霜灵微胶囊缓释剂水悬浮剂。

1.2.1.3 微胶囊粉剂的制备 将甲霜灵、烯酰吗啉、丁吡吗啉、氟吡菌胺原药分别与水以质量比1:2混合,加入1%分散剂2425,于球磨机中进行研磨,至原药颗粒小于5 μm,在装有搅拌器的三口圆底烧瓶中加入原药:密胺树脂预聚体(1:1),调节转速至400 r/min,2 h内加入稀盐酸调节pH值至4.2,后加入2 g氯化铵固化囊壁0.5 h,加入氢氧化钠调节pH值至6.5~7.0,以5 000 r/min的转速离心晾干即得微胶囊粉剂。

1.2.2 形态特征 取制备的微胶囊加水稀释分散涂抹于载玻片上,自然晾干后,喷金处理,扫描电子显微镜下观察。

1.2.3 粒径大小及分布 用激光粒度分布仪测定微胶囊的粒径大小及分布。

1.2.4 包覆率测定 取3份微胶囊悬浮液各2.0 mL(微胶囊粉剂称取2.000 0 g),加入100 mL容量瓶中,加蒸馏水定容,振荡1 min,过0.22 μm滤膜,在相应色谱条件下测定农药含量,即为囊外农药量,包覆率计算公式如下:

包覆率=(有效成分总投入量-囊外有效成分)/有效成分总投入量×100%。(1)

各原药色谱条件如下:甲霜灵色谱条件:Agilent 1220 infinity LC高效液相色谱仪,Sunfire™ C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm×5 μm),流速1.0 mL/min,柱温35℃,进样量10 μL,检测波长220 nm,流动相乙腈:甲醇:水=25:35:40(体积比),保留时间5.42 min。氟吡菌胺色谱条件:LC-10AT型高效液相色谱仪,ODS-C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm×5 μm),流速1.0 mL/min,柱温25℃,进样量10 μL,检测波长265 nm,流动相甲醇:水=75:25(体积比),保留时间约为4.6 min。烯酰吗啉色谱条件:LC-10AT型高效液相色谱仪,ODS-C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm×5 μm),流速1.0 mL/min,柱温35℃,进样量10 μL,检测波长243 nm,流动相甲醇:水=65:35(体积比),经过滤(0.45 μm尼龙膜)、脱气处理。丁吡吗啉色谱条件:LC-10AT型高效液相色谱仪,OD-SC₁₈色谱柱(4.6 mm×150 mm×5 μm),流速1.2 mL/min,柱温室温,进样量:10 μL,检测波长240 nm,流动相甲醇:乙腈:水=30:30:30(体积比)。

1.2.5 红外分析 将上述制备的微胶囊过滤,用蒸馏水冲洗、干燥获得甲霜灵微胶囊干粉。用红外分析仪分别测定各原药、微囊干粉、密胺树脂囊壁的红外吸收光谱。

1.2.6 温室盆栽试验 菌谷制备:500 g谷子加水1 L煮开至半数谷粒呈开花状,装入500 mL三角瓶,120℃灭菌30 min。无菌条件下取1 cm×1 cm的烟草黑胥病菌菌块转接到含有菌谷的三角瓶内,28℃培养14 d备用。将烟苗移栽

到直径10 cm、高10 cm的花盆中,用灭菌土壤、草炭与珍珠岩培养(体积比为2:2:1)^[9],每盆1株。移栽缓苗后进行药剂处理。2~3 d后于根部接菌谷10 g/株。设A、B、C、D、E、F、G、H 8个处理:A(对照):不施药剂,接菌谷;B:施72%甲霜灵·锰锌可湿性粉剂600倍液;C:接菌谷,施50%烯酰吗啉可湿性粉剂1 200倍液;D:15%甲霜灵微胶囊水悬浮剂1 200倍液;E:60%甲霜灵微胶囊粉剂0.20 g;F:60%烯酰吗啉微胶囊粉剂0.34 g;G:60%丁吡吗啉微胶囊粉剂0.67 g;H:60%氟吡菌胺微胶囊粉剂0.06 g。A、B、C、D按倍数稀释后灌根50 mL/盆,微胶囊粉剂与一定量细土混匀,等量埋于烟株根际。每处理15盆,3次重复。将烟苗置于人工气候室内培养^[10](白天30℃,黑夜28℃,光照时间:12 h/d,相对湿度95%)。施药后7、14、21、28、35 d计算病情指数、防治效果。

病情指数=Σ(各级病株数×级数)/(最高发病级数×调查总株数)×100%;(2)

防效=[(对照组病指-处理组病指)]/对照组病指×100%。(3)

1.3 数据分析

用DPS 13.0统计软件处理数据,采用Duncan氏新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 形态特征

根据上述条件制备15%甲霜灵微胶囊悬浮剂(图1-a)及各粉剂(图1-b),电镜下观察,微囊悬浮剂形态良好,表面光滑致密无凹陷,大小均一,分散性能良好;微囊粉剂表面包覆完全、致密。

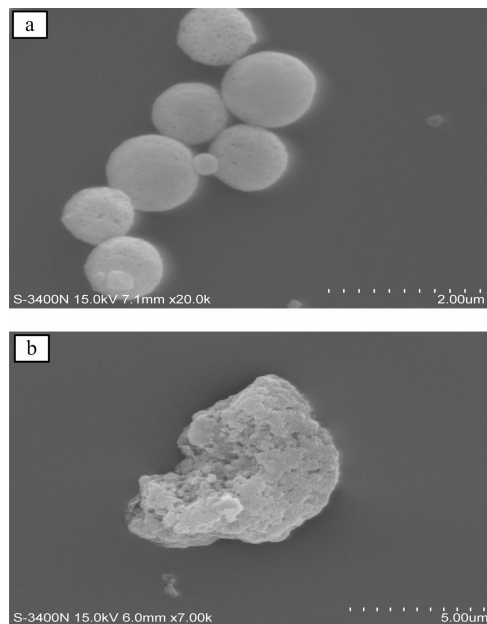


图1 微胶囊悬浮剂(a)及微胶囊粉剂(b)电镜照片

2.2 粒度分布

采用激光粒度分布仪对其粒度分布进行研究,可知该微胶囊悬浮剂粒径主要分布在10~20 μm之间,平均粒径为12.93 μm(图2-a);粉剂粒径主要分布在7~17 μm之间,平均粒径为9.76 μm(图2-b)。

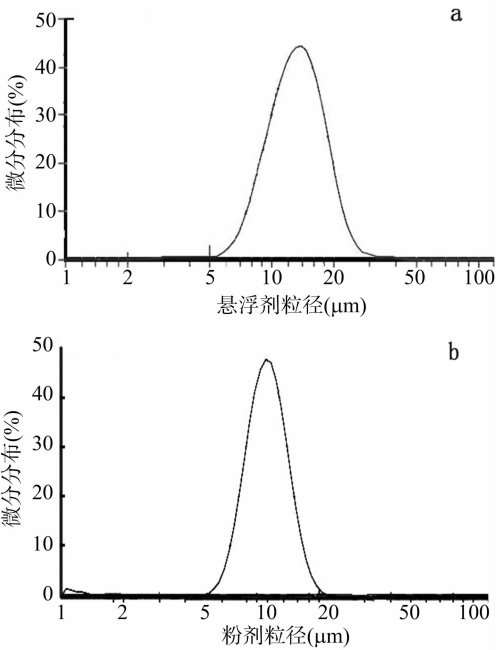


图2 微胶囊悬浮剂、粉剂粒径分布

2.3 包覆率测定

经高效液相色谱分析各微胶囊剂包覆率见表 1。

表 1 各微胶囊剂的包覆率

微胶囊剂	包覆率(%)
15% 甲霜灵微胶囊水悬浮剂	93.58 ± 5.10a
60% 甲霜灵微胶囊粉剂	90.15 ± 4.50ab
60% 烯酰吗啉微胶囊粉剂	88.31 ± 6.55b
60% 丁吡吗啉微胶囊粉剂	95.46 ± 2.69a
60% 氟吡菌胺微胶囊粉剂	86.22 ± 3.40b

注:表中数据为平均数 ± 标准差,同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下表同。

2.4 红外分析

图 3 - A 至图 3 - E 分别为 15% 甲霜灵微胶囊悬浮液、60% 甲霜灵微胶囊粉、60% 烯酰吗啉微胶囊粉、60% 丁吡吗啉微胶囊粉剂、60% 氟吡菌胺微胶囊粉剂的红外光谱图,各图中 a、b、c 分别是原药、密胺树脂囊壁、微胶囊干粉的红外吸收光谱图。可以看出,各微胶囊的红外谱图(图 3 中谱线 c)是原药物质(图 3 中谱线 a)与密胺树脂囊壁空壳谱图(图 3 中谱线 b)的叠加,即微胶囊的红外谱图中包含原药和囊壁的特征吸收峰,表明各原药被密胺树脂包覆且成分结构未发生改变。

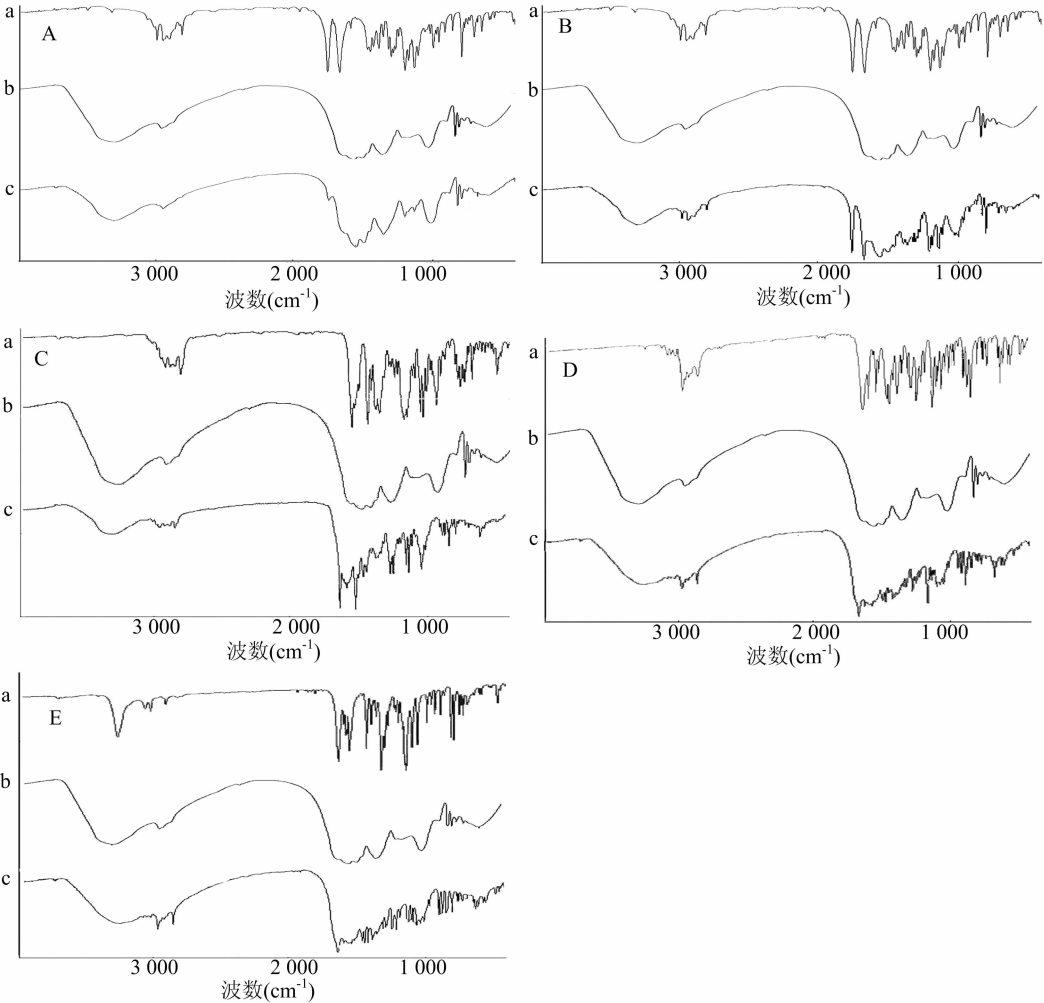


图3 各微胶囊红外光谱图

2.5 温室盆栽试验

盆栽试验结果见表 2,接种黑胫病菌 14 d 后,各药剂都表现出较高的防效,微胶囊中防效最高的是 15% 甲霜灵微胶囊悬浮剂的 92.1%,低于对照药剂(93.0%)。21 d 后最高防效为 82.3%,高于对照药剂(75.7%),直至 35 d 时最高防效(75.1%)仍高于对照药剂。甲霜灵微胶囊粉剂、烯酰吗啉微囊粉剂也表现出同样的防效趋势,14 d 50% 烯酰吗啉可湿性粉剂防效为 87.4%,比 60% 烯酰吗啉微囊粉剂(75.6%)高。

表 2 不同处理下各组的病情指数、防治效果

处理	接种后 7 d		接种后 14 d		接种后 21 d		接种后 28 d		接种后 35 d	
	病情指数	防效(%)	病情指数	防效(%)	病情指数	防效(%)	病情指数	防效(%)	病情指数	防效(%)
A	5.4±1.55a		74.8±4.45a		96.5±3.72a		100.0±0.00a		100.0±0.00a	
B	0.0±0.00b	100.0±0.00a	5.2±3.22d	93.0±4.31a	23.47±2.24def	75.7±2.32abc	29.9±0.87e	70.1±0.87b	34.8±5.90ef	65.2±5.90bc
C	0.0±0.00b	100.0±0.00a	9.4±0.87d	87.4±1.16a	28.9±3.00cde	70.1±3.12bcd	38.3±2.24d	61.7±2.24c	42.0±1.86d	58.0±1.86d
D	0.0±0.00b	100.0±0.00a	5.9±0.75d	92.1±1.00a	17.03±2.95f	82.3±3.06a	21.23±3.31f	78.8±3.31a	24.9±3.73g	75.1±3.73a
E	0.0±0.00b	100.0±0.00a	10.6±1.86d	85.8±2.49a	21.5±0.00ef	77.7±0.00ab	27.4±0.70e	72.6±0.70b	30.9±1.86f	69.1±1.86ab
F	0.0±0.00b	100.0±0.00a	18.3±3.48c	75.6±4.65b	30.37±7.08cd	68.5±7.34cd	35.6±1.97d	64.4±1.97c	38.3±1.17de	61.7±1.17cd
G	1.9±2.14a	64.2±39.55b	24.7±9.55bc	67.0±12.77bc	36.1±4.92bc	62.6±5.10de	45.7±3.72c	54.3±3.72d	48.6±5.22c	51.4±5.22e
H	0.0±0.00b	100.0±0.00a	27.9±2.98b	62.7±3.99c	42.47±4.97b	56.0±5.15e	50.1±4.27b	49.9±4.27d	55.1±2.25b	44.9±2.25f

注:表中数据为平均值±标准差。

3 结论与讨论

本研究选择了能有效防治烟草黑胫病的杀菌剂——甲霜灵、烯酰吗啉、丁吡吗啉、氟吡菌胺制备微胶囊,测定其相关性能表征,并以 72% 甲霜灵·锰锌可湿性粉剂、50% 烯酰吗啉可湿性粉剂作为对照研究其温室盆栽防效,结果表明,15% 甲霜灵微胶囊悬浮剂、60% 甲霜灵微胶囊粉剂、60% 烯酰吗啉微囊粉剂的防效高于常规药剂 72% 甲霜灵·锰锌可湿性粉剂、50% 烯酰吗啉可湿性粉剂,持效期长达 35 d 以上,体现微胶囊剂对常规剂型在缓释性及药效持久性方面具有优势,为杀菌剂类农药新剂型的开发和其在烟草病害防治上的应用奠定了基础。目前农药微胶囊的制备方法从囊壁形成原理上大致可分为物理法、化学法及物理化学法。其中化学法包括界面聚合法和原位聚合法^[11-13]。由于原位聚合法包封率高、稳定性好,抗水渗透力强,成型稳定,综合成本较低,因而被广泛使用^[14]。本试验以三聚氰胺和甲醛经原位聚合反应生成的密胺树脂作为囊壁材料。杀菌剂经微囊化后其药效、持效期与微胶囊的释放机理密切相关,而微胶囊的释放性能受测定时的分散介质、芯壁比、温度、光照、微生物等多种因素影响^[15]。囊壁经改性后也会影响囊壁的理化性质,进而改变包裹物的释放特性。如 PEG 接枝的微胶囊作壁材可以缓解初始突释效应^[16]。用硅烷偶联剂 KH550 改性脲醛树脂后,经 SEM 观察发现,在形成的脲醛树脂微胶囊表面有一薄层^[17]。季铵化的微胶囊衍生物在中性介质中的溶解度增加^[18]。由于微胶囊囊壁上存在许多纳米级的微孔,在减少农药用量、延长持效期的同时,减少了农药施用次数,使农药残留、环境污染、抗药性等问题得到缓解,这些问题还有待于进一步深入研究。

参考文献:

[1] 华乃震. 农药微胶囊剂的加工和进展(Ⅱ)[J]. 现代农药,2010, 9(4):6-10.

35 d 后 50% 烯酰吗啉可湿性粉剂防效只有 58.0%,烯酰吗啉微囊粉剂防效略高(61.7%),60% 甲霜灵微胶囊粉剂防效为 69.1%。丁吡吗啉、氟吡菌胺的微囊粉剂虽然防效效果不好,但从 21 d 到 35 d 防效降低幅度较小,表现出了微囊持久缓慢释放的效应。由此可知,15% 甲霜灵微胶囊悬浮剂、60% 甲霜灵微胶囊粉剂、60% 烯酰吗啉微囊粉剂 28 d 后防效高于 72% 甲霜灵·锰锌可湿性粉剂、50% 烯酰吗啉可湿性粉剂 2 种常规药剂,持效期长达 35 d 以上。

[2] 高德霖. 微胶囊技术在农药剂型中的应用[J]. 精细化工基地信息通讯,2000,20(3):11-15.

[3] 马国胜,高智谋. 烟草黑胫病菌培养性状的研究[J]. 中国农业科学,2007,40(3):512-517.

[4] 马国胜,高智谋,陈娟. 烟草黑胫病菌研究进展(一)[J]. 烟草科技,2003,189(4):35-42.

[5] 慕长炜,袁会珠,李楠,等. 4-[3-(吡啶-4-基)-3-取代苯基丙烯酰]吗啉类化合物的合成及杀菌活性[J]. 高等学校化学学报,2007,28(10):1902-1906.

[6] Valérie T, Fran ois B, Catherine S, et al. Novel tools to identify the mode of action of fungicides as exemplified with fluopicolide [J]. Recent Developments in Management of Plant Diseases,2009,1:19-36.

[7] Martins M R, Pereira P, Lima N, et al. Degradation of metalaxyl and folpet by filamentous fungi isolated from Portuguese (Alentejo) vineyard soils [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology,2013,65(1):67-77.

[8] Yuan L, Liang G Z, Xie J Q, et al. Synthesis and characterization of microencapsulated dicyclopentadiene with melamine-formaldehyde resins[J]. Colloid and Polymer Science,2007,285(7):781-791.

[9] Dai X Y, Su Y R, Wei W X, et al. Effects of top excision on the potassium accumulation and expression of potassium channel genes in tobacco[J]. Journal of Experimental Botany,2009,60(1):279-289.

[10] Cartwright D K, Spurr H W. Biological control of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* on tobacco seedlings with non-pathogenic binucleate rhizoctonia fungi[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1998,30(14):1879-1884.

[11] Morgan P W, Kwolek S L. Interfacial polycondensation. II. Fundamentals of polymer formation at liquid interfaces[J]. Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry,1996,34(4):531-559.

[12] Saihi D, Vroman I, Giraud S, et al. Microencapsulation of ammonium phosphate with a polyurethane shell. Part II. Interfacial polymerization technique[J]. Reactive and Functional Polymers,2006,66(10):1118-1125.

韩宝艳,纪明山,刘妍,等.苦参抑菌活性成分的化学结构与作用机理[J].江苏农业科学,2016,44(2):170-172.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.048

苦参抑菌活性成分的化学结构与作用机理

韩宝艳,纪明山,刘妍,沈俭龙

(沈阳农业大学植物保护学院,辽宁沈阳 110866)

摘要:采用硅胶柱层析和 HPLC 分离技术从苦参中获得 1 个抗病原真菌化合物,采用质谱和核磁共振波谱等技术鉴定了其化学结构,并评价了其对于番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌、水稻稻瘟病菌的菌丝生长、产孢的抑制作用。经过质谱、核磁共振氢谱($^1\text{H NMR}$)和碳谱($^{13}\text{C NMR}$)鉴定,发现其为已知结构苦参新醇 X(kushenolX)。该物质对番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌、水稻稻瘟病菌的菌丝均有抑制作用,当处理浓度为 200 mg/L 时,对 3 种病原真菌的抑制率均在 60% 以上,其中对水稻稻瘟病菌的抑制率达到 83.13%;该物质对 3 种病原菌孢子产生也有较强抑制作用,200 mg/L 下 3 种病原真菌的产孢抑制率均在 80% 以上。

关键词:苦参;抑菌活性;作用机理;黄酮类化合物;病原真菌

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)02-0170-03

苦参(*Sophora flavescens*)别称山槐子,为豆科槐属植物。苦参提取液的化学成分主要为生物碱、黄酮 2 大类^[1]。近年来国内外研究苦参的重点在于生物碱,对黄酮类成分的研究较少。随着分离技术不断提高,进一步发现了苦参中黄酮类的多种药理活性,引起了广泛重视和兴趣^[2]。贾利元等在研究苦参提取物对茄子黄萎病菌的化感效应时发现,苦参生物碱处理的抑菌率均低于同浓度黄酮类化合物处理的抑菌率^[3]。李巍等研究苦参黄酮抗滴虫和抗菌等作用机制和构效关系时,分离出 5-甲氧基-7,2',4'-三羟基-8-异戊烯基二氢黄酮和 3 β ,7,4'-三羟基-5-甲氧基-8-异戊烯基二氢黄酮 2 个新化合物^[4]。截至 2014 年,已从苦参中分离出 108 个黄酮类化合物^[5]。黄酮类化合物是多酚类植物的次级代谢产物,具有许多潜在的药用价值和生物活性,其中抑菌活性是研究热点之一^[6]。郑永权等以生物活性追踪试验为指导,从苦参提取物中分离出 2 个主要杀虫抑菌活性化合物苦参酮和槐属二氢黄酮 G^[7]。Kuroyanagi 从苦参中分

离出 23 种化合物,12 种为新分离出的化合物,其中 8 种为异戊烯基黄酮类,这些化合物都显示出明显的抗菌作用^[8]。国内外对苦参黄酮类化合物抑菌作用的研究集中在抗菌能力测定,有关作用机理的研究甚少。本研究采用硅胶柱色谱法、HPLC、质谱、核磁共振对苦参黄酮类中抑菌活性成分进行分离鉴定,通过菌丝生长速率法检测其对番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium*)、水稻稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)的抑菌效果,并对该活性成分的作用机理进行初步研究,以期后续研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试植物样品

苦参,自然晒干,用粉碎机粉碎备用。

1.2 供试菌

番茄灰霉病菌、黄瓜枯萎病菌、水稻稻瘟病菌由沈阳农业大学农药学实验室提供。

1.3 试剂

95%乙醇溶液、丙酮、正丁醇、乙酸乙酯、乙醚、石油醚等均为分析纯。

1.4 活性成分的提取与分离

将苦参粉碎物分别与 95%乙醇溶液、丙酮、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、乙醚等按 1 g : 10 mL 比例混合,静置 1 h,超声频率为 90 kHz,经超声波清洗器振荡提取 1 h。浸提后过滤留

收稿日期:2015-03-21

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201303025)。

作者简介:韩宝艳(1987—),女,硕士研究生,研究方向为生物农药。

E-mail: dongfangyuling@163.com。

通信作者:纪明山,博士,教授,主要从事农药毒理学研究。E-mail:

jimingshan@163.com。

[13] Yuan L, Liang G Z, Xie J Q, et al. Preparation and characterization of poly(urea-formaldehyde) microcapsules filled with epoxy resins [J]. Polymer, 2006, 47(15): 5338-5349.

[14] 戴杜雁. 原位聚合制备微胶囊的方法及其应用[J]. 天津纺织工学院学报, 1994, 13(1): 95-101.

[15] Dong Z J, Ma Y, Hayat K, et al. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(3): 455-460.

[16] Bhattarai N, Ramay H R, Gunn J, et al. PEG-grafted chitosan as an

injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release [J]. Journal of Controlled Release, 2005, 103(3): 609-624.

[17] Li H Y, Wang R G, Hu H L, et al. Surface modification of self-healing poly(urea-formaldehyde) microcapsules using silane-coupling agent [J]. Applied Surface Science, 2008, 255(5): 1894-1900.

[18] Bayat A, Dorkoosh F A, Dehpour A R, et al. Nanoparticles of quaternized chitosan derivatives as a carrier for colon delivery of insulin: ex vivo and in vivo studies [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2008, 356(1/2): 259-266.