

徐 婧,沈晓兰,周 捷,等. 生物农药茶多酚微乳剂的制备及其对稻瘟病菌的抑制效果[J]. 江苏农业科学,2017,45(19):191-195.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.19.043

# 生物农药茶多酚微乳剂的制备及其对稻瘟病菌的抑制效果

徐 婧,沈晓兰,周 捷,李东芳,邱业先

(苏州科技学院,江苏苏州 215000)

**摘要:**为制备高效、稳定的茶多酚微乳剂,延长茶多酚的作用时间,使茶多酚在抑制植物病原真菌[稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)]方面发挥更好的作用。通过筛选助溶剂和乳化剂确定茶多酚微乳剂配方,研究水质、储存条件及酸碱度等因素对微乳剂稳定性的影响;选择平板速率法,研究茶多酚微乳剂对稻瘟病菌的抑制效果。结果表明,根据拟三元相图分析,丙酮和 PEG800 作为茶多酚的助溶剂和乳化剂时,微乳剂最稳定且效果最好;不同剂型茶多酚对稻瘟病菌菌丝生长均有不同程度的抑制作用,茶多酚微乳剂>茶多酚丙酮溶剂>茶多酚水溶剂;其中茶多酚微乳剂的抑制效果最好,它对菌丝生长的抑制率达 81%。表明选择合适的乳化剂、溶剂种类和用量十分重要,茶多酚微乳剂对稻瘟病菌有较好的抑制作用。研究结果为植物源性农药微乳剂的研制提供了参考。

**关键词:**生物农药;茶多酚;微乳剂;稻瘟病菌;抑菌效果

**中图分类号:** S435.111.4<sup>+</sup>1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)19-0191-05

我国是世界上水稻生产量及需求量最多的国家之一,约占粮食作物总量的 27% 和 38%,是我国三大粮食作物之一<sup>[1-2]</sup>。然而水稻和其他农作物一样,被许多病原微生物包围,受到各种病害的干扰。世界公认的水稻三大病害有稻瘟病(*Magnaporthe grisea*)、纹枯病(*Rhizoctonia solani*)和白叶枯病(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)<sup>[3-4]</sup>。其中,稻瘟病是传播最广、危害最大的世界性病害之一,主要危害寄主植物的地上部分,是由子囊菌[*Magnaprthe grisea* (Hebert) Barr]引起的真菌性病害<sup>[5]</sup>。

为了有效地进行稻瘟病的综合防治,保障水稻的产量与质量,化学药剂长期以来都是防治稻瘟病的重要手段之一。但化学农药的弊端也逐渐严重——不仅造成环境污染、生态平衡的破坏,而且会损害人体健康。因此,用生物农药防治稻瘟病逐渐成为主流。生物农药是利用生物活体或其代谢产物针对农业有害生物进行杀灭或抑制的制剂。生物农药主要分为 3 类:动物源农药、微生物源农药及植物源农药。其中,植物源农药因在自然环境中易降解、无公害的优势,现已成为绿色生物农药首选之一。罗亚楠等发现,复方白毛藤提取液对温室盆栽水稻稻瘟病菌有较好的防治作用<sup>[6]</sup>。Hemingway 等研究表明,印度楝树种子的冷水提取物和油浸提取物对稻瘟病菌的生防效果很好<sup>[7]</sup>。邱业先等发现,不同浓度的茶多酚对稻瘟病菌菌丝生长和分生孢子萌发具有很强的抑制作用,其中 5.00、10.00 mg/mL 抑制效果最好,抑制率高达 100%<sup>[8-10]</sup>。

茶多酚提取工艺简单,生产成本低,且对人体、环境无副

作用。其抑制微生物的作用机制由多种因素共同作用,最重要的特性是络合蛋白质<sup>[11]</sup>。已有大量研究表明,茶多酚对病原细菌尤其对医学和食品致病细菌有较强的抑制作用。而茶多酚对病原真菌的抑制作用主要集中于皮肤真菌、生殖系统真菌,对植物真菌的抑制作用报道还较少,因此将茶多酚作为一种绿色植物源病原菌防治药物,有极大的开发潜力。但不同结构的茶多酚溶解度不同,对真菌的抑制效果会存在较大的差异。大部分茶多酚属于类黄酮化合物及其衍生物,一般黄酮苷元难溶或不溶于水,却易溶于甲醇、乙醇、丙酮、三氯甲烷、乙醚等有机溶剂或稀碱液中<sup>[12]</sup>。因此,可选用水乳剂、微乳剂、水分散性粒剂等水基化新剂型研制茶多酚微乳剂(micro-emulsion,简称 ME)<sup>[13]</sup>。

微乳剂又称水性乳油,是用水代替有机溶剂作分散介质,由水—表面活性剂—农药原油配制成的一种在热力学上稳定的、膨胀的、大的胶束分散体系。借助表面活性剂的作用,将液态或固态农药均匀分散在水中形成透明或半透明的农药微乳剂。与传统剂型——乳油相比,微乳剂基本不用或较少使用有机溶剂,从而降低了制剂对人和环境的污染。微乳剂剂型相对其他剂型有稳定性好、药效高、使用安全、高传递效率以及环境相容性好等特点。并且,农药微乳剂的开发历史较短,产品配方、加工工艺及技术指标等方面都有待深入研究和完善<sup>[13-14]</sup>。

茶多酚微乳剂在国内的科学研究工作才刚起步,因此本试验选用茶多酚为研究对象,助溶剂、微乳剂作为研制剂型,筛选并研制茶多酚微乳剂的最佳助溶剂。运用选择平板速率法试验来确定茶多酚微乳剂对稻瘟病菌的抑制效果,为植物源性农药微乳剂的研制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

98% 茶多酚粉末;稻瘟病菌;水稻种为圣稻 16 号;溶剂有

收稿日期:2016-05-06

基金项目:江苏省苏州市科技局科技计划资助项目(编号:SNG201353)。

作者简介:徐 婧(1992—),女,江苏扬州人,硕士研究生,主要从事生物催化转化工程研究。E-mail:843173685@qq.com。

通信作者:邱业先,博士,教授,主要从事蛋白质、土壤微生物、土壤酶学及植物资源利用研究。E-mail:qyx542@163.com。

甲醇、乙醇、正丁醇、丙酮、乙酸甲酯(均为分析纯);乳化剂有吐温-80、吐温-20、司盘-20、司盘-60、农乳 600<sup>#</sup>、PEG800。

1.2 方法

1.2.1 微乳剂组分筛选 (1)助溶剂的初选:取 10 个锥形瓶,向每瓶中加入 0.5 g 茶多酚粉剂,再分别加入 10 mL 待筛选助溶剂,振荡均匀后,观察溶解情况,选出能澄清且透明的溶剂。再各称取 0.5 g 茶多酚粉剂,分别溶于 10 mL 筛选出的溶剂中,溶解混匀,然后依次添加 0.1 g 茶多酚粉剂,每次同量,直至不能再溶解,得出每 10 mL 助溶剂最多能溶解的茶多酚质量,选择用量少、溶解完全的溶剂进入复选。(2)乳化剂的初选:按照 GB/T 1603—1979《农药乳化剂稳定性测定方法》的要求,对乳化剂单剂种类进行选择。称取 2.0 g 茶多酚粉剂,溶解于 20 mL 助溶剂中,并按 1.5 g/份,再称取 3.5 g 各类乳化剂单体分别加入溶液中,混合均匀,然后在搅拌的情况下加入蒸馏水,定容至 10 mL,在室温下观察是否能形成透明、稳定、均一的体系,能形成的乳化剂进入复选<sup>[10]</sup>。(3)复筛(拟三元相图的绘制):称取茶多酚 5.0 g 溶于 50 mL 有机溶剂中制成母液,作为 100% 油相,标记为 O 相;各类乳化剂单剂作为表面活性剂相,标记为 S 相,然后按照体积比 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 把母液和乳化剂配成均相,在锥形瓶中混匀静置,用去超纯水滴定至 50.00 mL(水相,标记为 W 相),并记录滴定过程中及终点处的现象。运用 Origin 8.0 软件绘制出溶剂—乳化剂—水的拟三元相图,通过对拟三元相图的微乳区大小进行分析比较,筛选出其中微乳区范围比较广的试剂组合。

1.2.2 茶多酚微乳剂的制备工艺 采用转相法制备微乳剂,将茶多酚溶于有机溶剂中作为油相,乳化剂加入油相中。搅拌成透明溶液,然后将水慢慢滴入油相中,边滴加边搅拌,刚开始时形成的是 W/O 型微乳剂,随着水量的增加,发生转相,最终形成 O/W 型微乳剂。

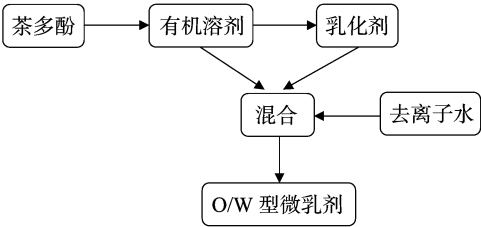


图1 茶多酚微乳剂制备流程

1.2.3 茶多酚微乳剂稳定性的研究 (1)冷储、热储及常温储存在对稳定性的影响:取 12 份等体积的茶多酚微乳剂在 100 mL 锥形瓶中,平均分为 4 组。其中第 1 组放置在(54±2)℃的培养箱中 15 d,并进行外观观察;记外观保持均匀透明为合格,如果分层,要在室温振荡下恢复原状,否则视为不合格。第 2 组放在冰箱中(0±1)℃冷储,保持 15 d,并记录其外观;观察有无沉淀,振荡后有无可见的粒子或油状物,没有沉淀和分层现象,或者有沉淀、浑浊现象,但在室温下渐渐消失,恢复透明状态的视为合格。第 3 组放在冰箱中-5℃冷储,保持 15 d,并记录其外观结果。第 4 组放在室温下储存,保持 15 d,并分别记录其外观结果。(2)水质对微乳剂稳定性的影响:选出最佳配方,分别用蒸馏水、去离子水、自来水和硬水,以合适的配比来制备该配方的微乳剂,并与超纯水比

较,观察刚配制完,静置一段时间后微乳剂的外观,记录结果。(3)酸碱度对微乳剂稳定性的影响:将配好的微乳剂分为等体积的 2 份,一份用 HCl 溶液一边慢慢调成酸性,一边观察其变化;另一份用配好的 NaOH 溶液一边慢慢调成碱性,一边观察其变化。

1.2.4 茶多酚微乳剂抑制稻瘟病菌效果研究 配制等浓度的茶多酚水溶液、茶多酚丙酮溶剂、茶多酚微乳剂 3 种溶液,并以无菌水(CK)为对照,共 4 个处理,每个处理作 4 个平板。先在灭菌的培养皿中加入配好的 1.00 mL 各个溶液,对照组加 1.00 mL 无菌水,用灭菌的打孔装置在稻瘟病菌菌落边缘生长旺盛的部位打取菌圆片,用无菌镊子轻挑放入凝固的培养基中央,且将有菌一面贴着培养基,每种溶液作 3 个处理,置于 27℃恒温培养箱中培养 6 d,每 24 h 观察 1 次,测量菌落直径,观察菌落形态、生长状况并拍照<sup>[11]</sup>。

抑菌率 =  $\frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 微乳剂组分的筛选

2.1.1 助溶剂的初选 根据茶多酚的理化性质,从中选择甲醇、乙醇、丙三醇、异戊醇、正丁醇、乙酸甲酯、乙酸乙酯、三氯甲烷、丙酮 9 种有机溶剂进行助溶剂的初选,筛选结果见表 1。

表 1 助溶剂初步筛选结果

| 溶剂种类     | 茶多酚溶解情况 | 结果 |
|----------|---------|----|
| 甲醇       | 透明且澄清   | √  |
| 乙醇       | 透明且澄清   | √  |
| 丙三醇      | 不溶解     | ×  |
| 异戊醇      | 少许溶解    | ×  |
| 正丁醇      | 透明且澄清   | √  |
| 乙酸甲酯     | 少许溶解    | ×  |
| 乙酸乙酯     | 少许溶解    | ×  |
| 三氯甲烷     | 几乎不溶解   | ×  |
| 丙酮       | 透明且澄清   | √  |
| 去离子水、蒸馏水 | 少许溶解    | ×  |

注:“×”表示排除,“√”表示可进行进一步分析。表 2、表 3 同。

表 1 结果显示,茶多酚在甲醇、乙醇、正丁醇和丙酮中均能完全溶解。因此,对这几种助溶剂做进一步分析试验,测量 10 mL 助溶剂对茶多酚的溶解情况,从而进行筛选,结果见表 2。

表 2 茶多酚在不同助溶剂中的溶解情况

| 溶剂种类 | 茶多酚最大溶解量<br>(g/10 mL) | 结果 |
|------|-----------------------|----|
| 甲醇   | 1.8                   | √  |
| 乙醇   | 1.6                   | √  |
| 正丁醇  | 0.7                   | ×  |
| 丙酮   | 2.6                   | √  |

表 2 结果显示,丙酮对茶多酚的溶解度最大,甲醇和乙醇的溶解度较大,正丁醇对茶多酚的溶解度一般,故排除。因而选择甲醇、乙醇、丙酮进入复选,选择最优的溶剂组合。

2.1.2 乳化剂的初选 乳化剂是制备微乳剂的重要条件,选择不对,就不能制成稳定的微乳剂。选择溶解度最高的丙酮为助溶剂,溶解茶多酚,作为原液。原液 1.5 g,乳化剂 3.5 g,然后加水定容至 10 mL。配制一系列配方样品,选择可以形

成均一透明的微乳剂体系,确定乳化剂单体,结果见表3。

表3 乳化剂初步筛选结果

| 乳化剂种类              | 微乳剂外观 | 结果 |
|--------------------|-------|----|
| 吐温-20              | 透明均一  | ✓  |
| 吐温-80              | 透明均一  | ✓  |
| 司盘-20              | 浑浊    | ×  |
| 司盘-60              | 浑浊    | ×  |
| PEG-800            | 透明均一  | ✓  |
| 农乳600 <sup>#</sup> | 透明均一  | ✓  |

表3结果显示,能产生透明均一微乳剂的是吐温-20、吐温-80、PEG-800、农乳600<sup>#</sup>;司盘-20、司盘-60 浑浊,不能形成标准的微乳剂,因此选择吐温-20、吐温-80、PEG-800 和农乳600<sup>#</sup>进入复选。

2.1.3 微乳剂最优助溶剂与乳化剂的复筛 采用转相法制备微乳剂。针对初选出的助溶剂甲醇、乙醇和丙酮,先确定单一的乳化剂进行试验,进而挑选出最理想的助溶剂。绘制出母液-乳化剂-去离子水的拟三元相图,通过对拟三元相图微乳区的分析比较,筛选出其中微乳区范围比较广的试剂组合。上述3种助溶剂的拟三元相图如图2至图4所示。

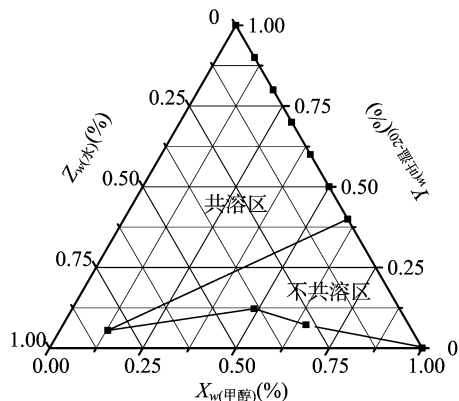


图2 甲醇-吐温20-水拟三元相图

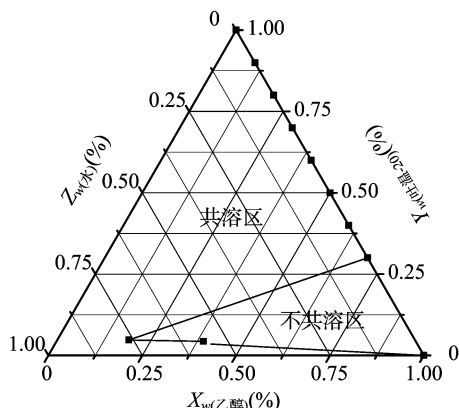


图3 乙醇-吐温20-水拟三元相图

通过比较拟三元相图的微乳区面积,可以看出复配液丙酮-吐温20-水的微乳范围(即共溶区)最大,所以选择丙酮为最佳助溶剂。

选择丙酮为助溶剂与上一步试验初选的乳化剂复配,利用相同的方法,挑选出最理想的乳化剂。作拟三元相图见图5至图7。

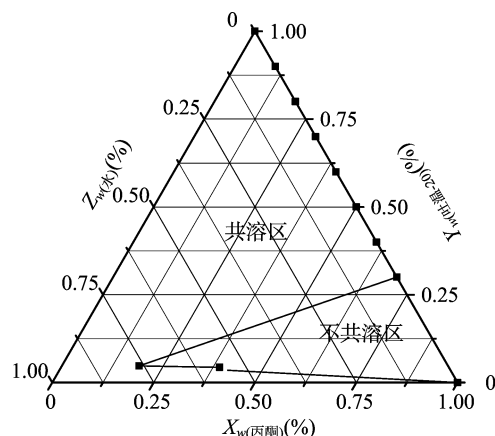


图4 丙酮-吐温20-水拟三元相图

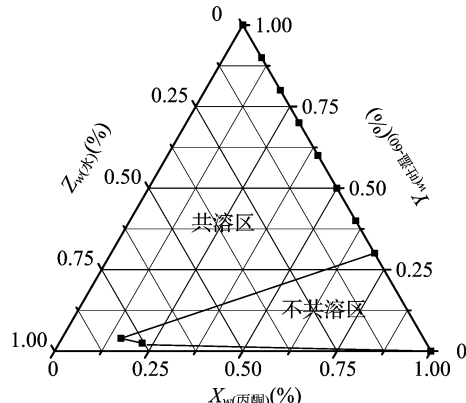


图5 丙酮-吐温60-水拟三元相图

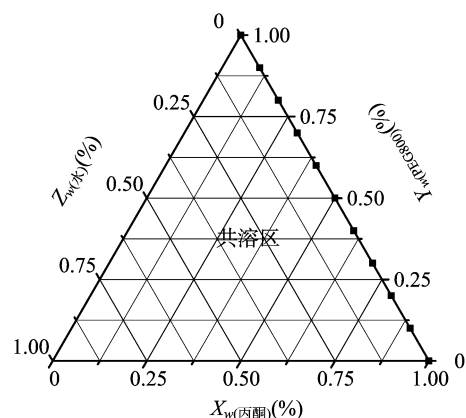


图6 丙酮-PEG800-水拟三元相图

通过比较拟三元相图的微乳区面积,可以看出复配液丙酮-PEG800-水的微乳范围最大,所以选择 PEG800 为最佳乳化剂,复配液丙酮-PEG800-水为最佳微乳剂体系。

## 2.2 微乳剂稳定性的研究

根据丙酮和 PEG800 的拟三元相图,选取茶多酚含量较高的边界比例 7:3 来配制微乳剂,取 1 g 茶多酚粉剂溶于 10 mL 丙酮中,称取 7 g 茶多酚丙酮溶液与 3 g PEG800 混合均匀,制成茶多酚微乳剂。

2.2.1 冷藏、热储及常温储存对稳定性的影响 分别取等体积的微乳剂于不同温度下放置,并分别在 0、3、6、9、12、15 d 时记录其外观。冷冻起来的一组于室温下化开再观察,结果见表4。

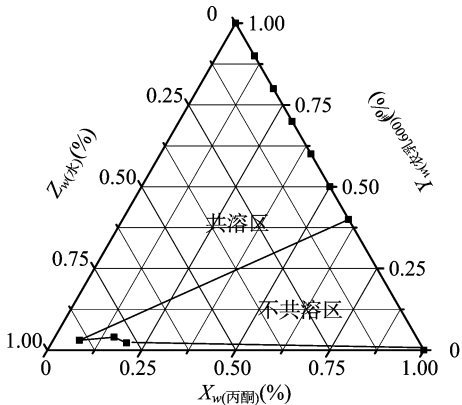


图7 丙酮-农乳600#-水拟三元相图

表 4 储存温度对微乳剂外观的影响

| 储存温度<br>(℃) | 外观  |       |       |       |       |       |
|-------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
|             | 0 d | 3 d   | 6 d   | 9 d   | 12 d  | 15 d  |
| 54 ± 2      | +   | +, 黏稠 | +, 黏稠 | +, 黏稠 | +, 黏稠 | +, 黏稠 |
| 0 ± 1       | +   | +     | +     | +     | +     | +     |
| -5          | +   | +     | +     | +     | +     | +     |
| 室温          | +   | +     | +     | +     | +     | +     |

注：“+”表示澄清、透明、均一，“-”表示浑浊。表 5、表 6 同。

在可能储藏的温度范围内,冷储或热储对茶多酚微乳剂基本无影响。热储期间,溶液澄清透明,符合要求,但是随着时间的推移,微乳剂中的水分蒸发附着在试管壁上或散失,导致微乳剂变得黏稠。冷储和常温下的结果一致,微乳剂仍然保持澄清透明,说明茶多酚微乳剂能适应的环境温度变化范围较宽,能满足相关要求。

2.2.2 水质对微乳剂稳定性的影响 用蒸馏水、去离子水、硬水、自来水分别配制微乳剂,超纯水作为对照,观察并记录水质对微乳剂外观的影响,结果见表 5。初始外观与静置 1 h 后现象相同,所有溶液都形成稳定均一的微乳剂体系,水质对所配制的微乳剂的影响不大,说明该微乳剂复配体系对水质的适应能力很强,自来水即可满足要求。

表 5 水质对微乳剂外观的影响

| 水质   | 外观  |       |       |        |        |
|------|-----|-------|-------|--------|--------|
|      | 0 h | 0.5 h | 1.0 h | 24.0 h | 48.0 h |
| 超纯水  | +   | +     | +     | +      | +      |
| 蒸馏水  | +   | +     | +     | +      | +      |
| 去离子水 | +   | +     | +     | +      | +      |
| 硬水   | +   | +     | +     | +      | +      |
| 自来水  | +   | +     | +     | +      | +      |

2.2.3 酸碱度对稳定性的影响 按照前面的方法配好微乳剂,调节 pH 值,结果见表 6。茶多酚微乳剂在调 pH 值至 8.75 时微乳剂颜色变深,但仍保持澄清,一直调至 12.0 时颜色已深到肉眼无法分辨溶液是否澄清。一般酸性水稻土或碱性水稻土在被水淹后,田中 pH 值偏中性,范围在 4.6 ~ 8.0 之间,这个区间 pH 值对微乳剂的影响不大。

2.3 茶多酚微乳剂抑制稻瘟病菌的效果

结果如图 8 所示,10.00 mg/mL 的茶多酚水溶液、茶多酚丙酮溶液、茶多酚微乳剂与无菌水(CK)处理的稻瘟病菌菌落直径不同,其中无菌水(CK)的菌落直径最大,在 7 d 时达到

表 6 酸碱度对微乳剂外观的影响

| pH 值 | 微乳剂外观 | pH 值 | 微乳剂外观   |
|------|-------|------|---------|
| 1.0  | +     | 7.0  | +       |
| 2.0  | +     | 8.0  | +       |
| 3.0  | +     | 9.0  | +, 颜色变深 |
| 4.0  | +     | 10.0 | +, 颜色变深 |
| 5.0  | +     | 11.0 | +, 颜色变深 |
| 6.0  | +     | 12.0 | 颜色变深    |

8.641 cm,茶多酚微乳剂处理的菌落直径最小,为 1.640 cm,抑菌率为 81%;其次是茶多酚丙酮溶液和茶多酚水溶液处理的菌落,直径分别为 2.781、3.469 cm,抑菌率分别为 68%、60%。由图 8 可知,4 个处理差异明显,其中,茶多酚微乳剂抑菌效果 > 茶多酚丙酮溶液 > 茶多酚水溶液。

观察并记录 7 d 来各组处理的稻瘟病菌菌落直径,结果见表 7。不同剂型的茶多酚对稻瘟病菌菌丝生长均有不同程度的抑制作用。其中,茶多酚微乳剂的抑制效果最好,其菌丝生长的抑制率达 81%;茶多酚丙酮溶剂对稻瘟病菌抑制作用其次,茶多酚水溶剂对稻瘟病菌抑制效果最差,可能是因为茶多酚溶于水后难以长期维持本身化学性质,而微乳剂的形式却可以增强茶多酚的抑菌效果。

表 7 不同剂型茶多酚处理的稻瘟病菌的菌落直径

| 剂型      | 菌落直径(mm) |       |       |       |       |       |       |
|---------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|         | 1 d      | 2 d   | 3 d   | 4 d   | 5 d   | 6 d   | 7 d   |
| 茶多酚水溶液  | 5.15     | 6.46  | 7.79  | 15.68 | 22.65 | 28.75 | 34.69 |
| 茶多酚丙酮溶液 | 5.13     | 6.15  | 6.95  | 11.08 | 16.92 | 21.57 | 27.81 |
| 茶多酚微乳剂  | 5.06     | 5.61  | 6.09  | 7.28  | 10.25 | 13.42 | 16.40 |
| 无菌水     | 5.27     | 18.47 | 34.59 | 46.70 | 56.90 | 72.04 | 86.41 |

3 结论与讨论

对助溶剂、乳化剂等复配并结合拟三元相图的研究筛选出茶多酚微乳剂的研制配方,其中,丙酮—PEG800—水体系最好。对茶多酚微乳剂体系进行稳定性(水质、酸碱度、温度)的研究,结果显示该体系稳定性良好。蒸馏水、去离子水、硬水、自来水对其影响较小,从节约成本来看,自来水即可满足要求。(54 ± 2)℃ 条件下,微乳剂会随着时间的推移出现黏稠现象,在(-5 ~ 53)℃ 条件下,微乳剂均可稳定存在,具有较宽的温度范围。偏碱性时,微乳剂的颜色开始变深,在低 pH 值条件下,茶多酚微乳剂均稳定。将茶多酚微乳剂对稻瘟病菌进行防治试验,结果显示茶多酚微乳剂的抑菌率达 81%,远高于茶多酚丙酮溶液的 68% 及茶多酚水溶液的 60%,说明茶多酚微乳剂具有良好的防治效果。

目前,微乳剂或茶多酚的研究已经逐渐成熟,但茶多酚做成微乳剂目前还在试验中(即还处于空白阶段)。本试验发现,甲醇、乙醇、正丁醇和丙酮作为助溶剂,茶多酚均能完全溶解。鲁静等研究者在试验过程中发现,乙醇、丙酮均能将牛心朴子与苦豆子全部溶解,由此可见,乙醇与丙酮助溶效果极佳<sup>[15]</sup>。微乳剂的制备工艺有乳化油法、乳化水法、转相法等,在试验过程中,乳化油法、乳化水法在最初的过程中,不利于茶多酚的溶解,因而选择转相法。储西平等研究者在制作微乳剂的过程中均采用转相法<sup>[16-17]</sup>。在微乳剂稳定性的研究试验中,水质、酸碱度、温度对其影响均不大,且适应范围较

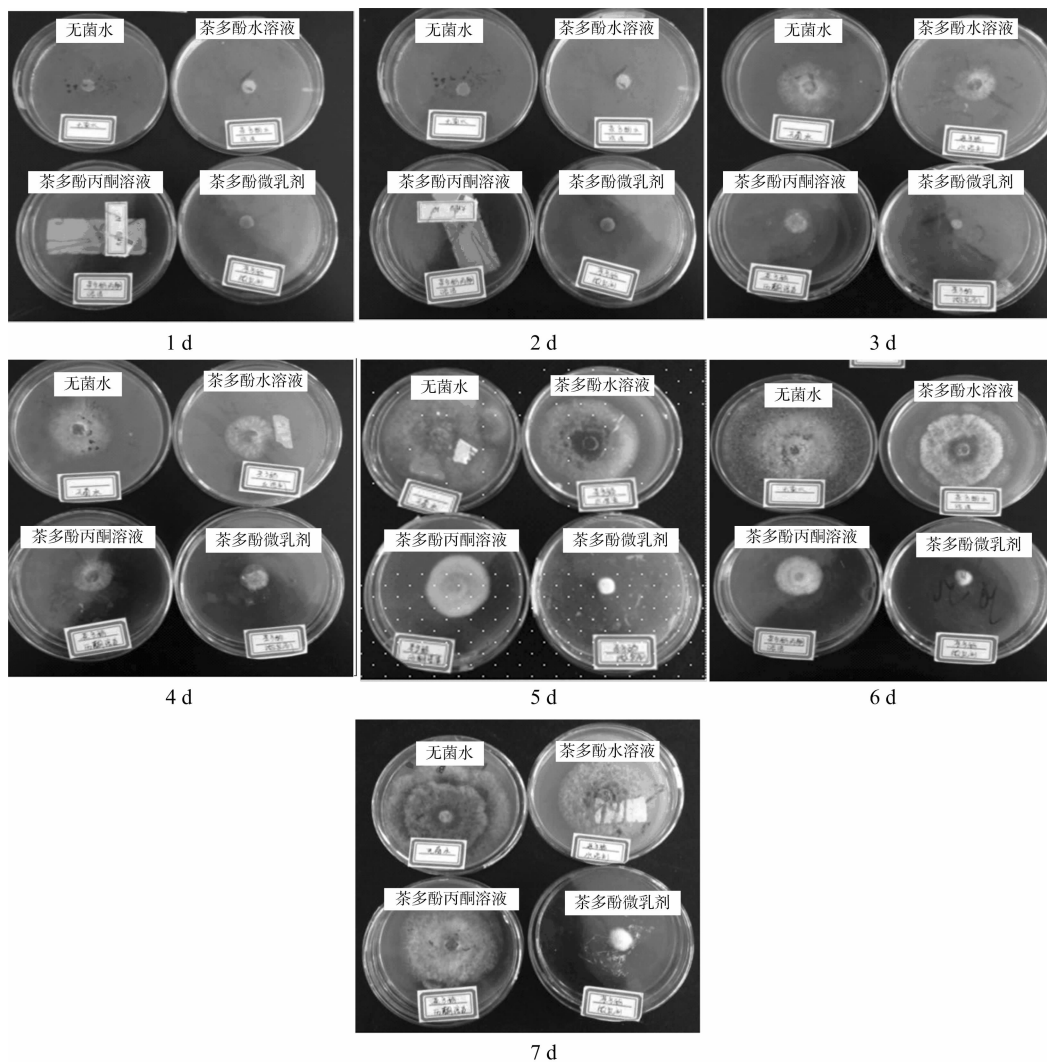


图8 不同剂型茶多酚溶液处理的菌落

广。这与鲁静等研究者的研究结果<sup>[15]</sup>一致,说明丙酮-PEG800-水这个体系制成的茶多酚微乳剂具有良好的稳定性。

本试验运用的乳化剂种类相对较少,或许在未用的乳化剂中,存在更利于茶多酚溶解的乳化剂,这还需要进一步的研究;且茶多酚微乳剂运用到田间试验中,能否达到预期的效果,也需作进一步的探究。

#### 参考文献:

- [1] Xu J Z, Peng S Z, Yang S H, et al. Ammonia volatilization losses from a rice paddy with different irrigation and nitrogen managements[J]. *Agricultural Water Management*, 2012, 104(2): 184-192.
- [2] 朱德峰, 陈惠哲, 徐一成, 等. 我国双季稻机械化制约因子与发展对策[J]. *中国稻米*, 2013, 19(4): 1-4.
- [3] 刘国权, 孟昭河, 任艳军, 等. 水稻抗稻瘟病研究进展与对策[J]. *中国农学通报*, 2004, 20(1): 211-214.
- [4] 赵新华. 白叶枯病菌拮抗菌筛选及水稻叶围微生物互作研究初报[J]. *中国水稻科学*, 2000, 14(3): 161-164.
- [5] 杨守仁. 水稻[M]. 北京: 农业出版社, 1987.
- [6] 罗亚楠, 于晓洋, 刘立群. 茶叶中茶多酚的提取及分析检测[J]. *化学世界*, 2011, 52(9): 526-528.
- [7] Hemingway R W, Laks P E. Plant polyphenols. Synthesis, properties, significance[M]. New York: Plenum Press, 1992.
- [8] 邱业先, 王飞, 汪金莲, 等. 茶多酚对产脲酶真菌细胞生长及膜透性的影响[J]. *土壤通报*, 2005, 36(1): 140-142.
- [9] Amadioha A C. Controlling rice blast *in vitro* and *vivo* with extracts of *Azadirachta indica*[J]. *Crop Protection*, 2000, 19(5): 287-290.
- [10] 汪金莲, 邱业先, 扶教龙, 等. 茶多酚对稻瘟病菌的抑制作用及抑菌机理[J]. *天然产物研究与开发*, 2011, 23(5): 918-922.
- [11] 方中达. 植物研究方法[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [12] 杨贤强, 王岳飞, 陈留记, 等. 茶多酚化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2013.
- [13] 吴莹, 冯建安, 王欢, 等. 植物源杀虫剂蓖麻碱微乳剂最佳配方的筛选[J]. *农药*, 2015, 54(10): 732-735.
- [14] 刘步林. 农药剂型加工技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 1998.
- [15] 鲁静, 贺晓莹, 杨敏丽, 等. 牛心朴子与苦豆子生物碱复配物微乳剂的制备[J]. *皮革与化工*, 2015, 32(2): 29-33.
- [16] 储西平, 明亮, 苏小东, 等. 10% 氟氰草酯微乳剂的研制[J]. *江苏农业科学*, 2009(3): 147-148.
- [17] 李保同, 汤丽梅, 杨梅花, 等. 12% 三唑磷微乳剂的制备与应用[J]. *江西植保*, 2009, 32(2): 70-73.