

李余先,王雅儒.小檗碱纳米粒制备工艺优化及其对人参黑斑病的防效[J].江苏农业科学,2024,52(23):134-139.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.23.019

小檗碱纳米粒制备工艺优化及其对人参黑斑病的防效

李余先¹,王雅儒²

(1.吉林农业科技学院中药学院,吉林吉林 132101;2.中国药科大学中药学院,江苏南京 210098)

摘要:人参黑斑病对药用植物人参破坏力极强,小檗碱作为植物源绿色灭菌剂农药,在不影响非目标生物的情况下,具有除草、抑菌、杀虫等农用活性,在植物病害防治领域发挥重要作用。然而其溶解度低、生物利用度差,从而在人参黑斑病防治方面应用受限。为了开辟小檗碱在人参黑斑病防治方面的应用途径,利用离子凝胶法制备小檗碱壳聚糖纳米粒(BRCSNP)并进行处方工艺优化。结果显示,该纳米制剂呈现出良好的分散稳定性,粒径为 (156.8 ± 5.8) nm,载药量为14.76%。体外释放试验结果表明,原药组于6 h内完全释放而BRCSNP于6 h累计释放率为50.32%,小檗碱缓释效果得以实现。通过高效液相色谱(HPLC)和叶面滞留量研究考察其在紫外光源下的光解稳定性以及叶面黏附性。最后分别采用菌丝生长速率法和离体叶片试验研究了其对人参黑斑病菌的抑制效果,试验结果表明BRCSNP对人参黑斑病有效好的防治效果。研究结果为小檗碱在人参黑斑病防治方面的应用提供了理论基础,降低了人参种植中的化学农药使用量,促进了人参种植业的绿色可持续发展。

关键词:植物源农药;人参黑斑病;抑菌活性;纳米农药;小檗碱

中图分类号:S435.675 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)23-0134-06

人参黑斑病是一种对药用植物人参具有较强破坏力的循环系统疾病,其危害表现为叶片脱落、植株枯萎、人参种子品质下降和人参根产量减少^[1]。目前,防治人参黑斑病主要利用化学手段,

但农药的频繁使用不仅会破坏生态环境,还会引起人参产品农残超标及病菌产生抗药性等问题^[2-3]。为了贯彻可持续发展的理念,保证农民收入,研制新型绿色灭菌剂意义重大。

植物作为一种天然抗菌物质,具有无污染、不易产生耐药性等独特优势,并且可以在不影响非目标生物的情况下达到理想的防治效果^[4],因此,在植物病害防治方面,植物源农药是近年来的研究热点^[5]。王彩霞等通过46科87种中药植物乙醇提取物的筛选发现厚朴、麦冬、乌药、麻叶蟛蜞菊等4种

收稿日期:2023-11-29

基金项目:吉林省科技发展计划(编号:20220204086YY)。

作者简介:李余先(1979—),男,吉林德惠人,博士,副教授,从事中药新药开发研究。E-mail:769831847@qq.com。

通信作者:王雅儒,硕士研究生,从事中药纳米制剂研究。E-mail:1033227647@qq.com。

[15] Jonckheere W, Dermauw W, Khalighi M, et al. A gene family coding for salivary proteins (SHOT) of the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae* exhibits fast host-dependent transcriptional plasticity[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2018, 31(1):112-124.

[16] 吴坤君,李明辉.棉铃虫营养生态学的研究:食物中糖含量的影响[J].*昆虫学报*,1992,35(1):47-52.

[17] Stepansky A, Kovalski I, Perl-Treves R. Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1999, 217(3):313-332.

[18] 杨金睿,肖关丽.植物抗虫生理研究进展[J].*中国农学通报*, 2021, 37(6):130-136.

[19] 欧阳玉婷,田森,胡蕾,等.茶叶叶片理化性质对茶蚜取食选择性的影响[J].*植物保护*,2023,49(6):40-46,62.

[20] 何菁,周福才,陈学好,等.辣椒叶片物理性状对烟粉虱寄生选择的影响[J].*生态学杂志*,2016,35(11):3045-3050.

[21] 尚宏芹,刘建萍,戴洪义,等.辣椒体表茸毛与抗蚜虫关系的研究[J].*莱阳农学院学报*,2004,21(4):293-295,298.

[22] 王雨,王舰,吴问其,等.扫描电镜下的小麦叶毛性状与麦长管蚜生物学参数相关性分析[J].*植物保护学报*,2014,41(4):474-481.

[23] 蒋桂华,谢鸣,吕仲贤,等.草莓品种对蚜虫的抗性机制[J].*果树学报*,2006,23(5):728-731.

[24] 谭济才,邓欣.植物抗病虫性机制与茶树良种选育[J].*茶叶通讯*,1994(3):13-16.

[25] 杨爽,李海鹏,杨培鑑,等.不同草莓品种对白粉病的抗性调查[J].*北方园艺*,2014(10):104-106.

[26] 闫世江,张继宁,刘洁.聚类分析在黄瓜育种中的应用[J].*当代生态农业*,2012(增刊1):9-12.

植物提取物对试验菌株表现出明显的抑菌性^[6]。安福涛等发现丁子香酚与大黄素甲醚对黄瓜白粉病具有较好的防治效果^[7]。小檗碱(berberine,简称BR)是从黄连根茎中提取的主要活性成分,它属于异喹啉类生物碱,在临床上常被用作抗肠道细菌感染的药物^[8]。近来研究发现,小檗碱具有除草、抑菌、杀虫等农用活性,使其在农业上得到广泛研究与应用,而在人参黑斑病的防治方面尚未见报道^[9]。

由于小檗碱溶解度较低、生物利用度较差,使其进一步扩大应用受限^[10]。纳米材料具有小尺度、表面以及量子效应,在农业上主要用作农药控释载体,以提高农药的稳定性和叶片附着力,提高靶向释放性、农药分子光解或氧化稳定性等^[11]。环境友好型纳米农药可降低农药在产品和环境中的使用量与残留量,这对保证药品安全和生态具有重要意义^[12]。

壳聚糖是天然多糖甲壳素脱乙酰的产物,其组成为聚D-氨基葡萄糖,表现出良好的生物可降解性、生物相容性、低毒性等生物学特性^[13]。壳聚糖分子与农药化合物之间的静电作用能提高农药稳定性。其纳米粒子介孔结构使农药的释放速率得到控制,很好地延长了农药的作用时间^[14]。

本研究采用离子交联法制备出小檗碱-壳聚糖载药纳米粒(简称BRCSNP),对所制得的纳米粒进行工艺优化,采用多种分析技术对其进行表征,同时研究小檗碱-壳聚糖纳米粒对人参链格孢的抑菌活性和对人参黑斑病的室内防效,为人参黑斑病的生物防治提供理论依据,减少农药使用量,促进人参种植的绿色健康发展。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 化学试剂及仪器 试验用化学试剂主要有:小檗碱(纯度 $\geq 97\%$,大连美仑生物技术公司)、壳聚糖(北京索莱宝科技有限公司)、三聚磷酸钠(上海麦克林生化科技股份有限公司)、醋酸(南京化学试剂股份有限公司);氢氧化钠(西陇科学股份有限公司)。试验时间在2023年6月至11月,试验地点位于中国药科大学江宁校区内。

试验仪器主要有:精密电子天平(赛多利斯有限公司)、NanoZS90型纳米粒度仪(Malvern公司,英国)、岛津液相色谱仪LC-2030 Plus(日本SHIMADZU公司)、磁力搅拌器(西安远舰仪器设备有限公司)、Tensor 27傅里叶红外光谱仪(布鲁克光谱仪

器公司、JEM-1200 EX透射电镜(日本JEOL公司)。

1.1.2 供试菌株 人参黑斑病菌(*Alternaria panax*) CPB,由吉林农业科技学院植物病理实验室提供。

1.1.3 供试植株 健康且生长一致的3年生的人参根,品种为集安大马芽,由吉林农业科技学院人参平台提供。

1.1.4 供试培养基 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基(杭州百思生物技术有限公司)。

1.2 小檗碱壳聚糖纳米粒的制备

为制备小檗碱-壳聚糖纳米粒,选用常规离子交联法。称取CS粉末缓慢溶于1%醋酸中,配制成0.5 mg/mL CS-HAC溶液(pH值为5)。在去离子水溶液中,加入适量的小檗碱粉末,制备成0.5 mg/mL的小檗碱溶液,通过磁力搅拌器将二者混合。称取适量的三聚磷酸钠(TPP)粉末于去离子水中,缓慢地向混合溶液中滴加,搅拌25 min,配制成0.5 mg/mL TPP水溶液。

1.3 小檗碱壳聚糖纳米粒的单因素考察

采用粒径和PDI作为评价指标,单因素考察CS浓度、TPP浓度、搅拌速度、搅拌时间和药载质量比对负载BR壳聚糖纳米粒的影响机制。

1.3.1 壳聚糖质量浓度 按“1.2”节中的方法制备BRCSNP,固定搅拌速度为1 000 r/min,搅拌时间为25 min,TPP与小檗碱浓度为0.5 mg/mL,药载比为4:1,考察壳聚糖不同浓度(0.25、0.50、1.00、1.50 mg/mL)对纳米粒的粒径和聚合物分散性指数(PDI)的影响。

1.3.2 TPP质量浓度 按“1.2”节中的方法制备BRCSNP,固定搅拌速度为1 000 r/min,搅拌时间为25 min,CS与小檗碱浓度为0.5 mg/mL,药载比为4:1,考察TPP不同浓度(0.25、0.50、1.00、1.50 mg/mL)对纳米粒粒径、PDI的影响。

1.3.3 小檗碱与壳聚糖的质量比 按“1.2”节中的方法制备BRCSNP,固定搅拌速度为1 000 r/min,搅拌时间为25 min,TPP、CS与BR浓度为0.5 mg/mL,考察小檗碱与壳聚糖不同质量比(1:1、1:2、1:4、1:6、1:8)对纳米粒的粒径和PDI的影响。

1.3.4 搅拌时间 按“1.2”节中的方法制备BRCSNP,固定搅拌速度为1 000 r/min,TPP与小檗碱浓度为0.5 mg/mL,药载比为4:1,考察不同搅拌时间(10、15、20、25、30 min)对纳米粒粒径、PDI的影响。

1.3.5 搅拌速度 按“1.2”节中的方法制备

BRCSNP, 固定搅拌时间为 20 min, TPP 与小檗碱浓度为 0.5 mg/mL, 药载比为 4 : 1, 考察不同搅拌速度 (600、800、1 000、1 200、1 500 r/min) 对纳米粒粒径、PDI 的影响。

1.4 小檗碱壳聚糖纳米粒的表征

1.4.1 粒径和 Zeta 电位测定以及外观形貌表征

采用 NanoZS90 纳米粒度分析仪测定了小檗碱纳米颗粒的粒径、PDI 和电位。用透射电镜测试并观察其形态特征。

1.4.2 红外光谱分析 分别取适量 CS、BR、TPP 和 BRCSNP 样品粉末, 采用 KBr 压片法进行红外光谱扫描检测, 扫描范围为 400 ~ 4 000 cm^{-1} 。

1.4.3 载药量及包封率的测定

1.4.3.1 小檗碱标准曲线测定 先称取 5 mg BR 原药, 用甲醇溶解并定容至 5 mL, 得到质量浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的 BR 甲醇溶液; 再依次将其稀释成 200、150、100、80、60、40 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液, 用高效液相色谱 (HPLC) 测试样品的峰面积。色谱条件: 色谱柱: Kromasil C18 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 - 乙腈 - 磷酸 (0.01 mol/L) 溶液 (10 : 28 : 62, 体积比); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 350 nm; 进样量: 10 μL 。

1.4.3.2 载药量及包封率测定 采用超滤离心法测定小檗碱壳聚糖纳米粒包封率 (EE) 和载药量 (DL)^[15]。取适量制备好的小檗碱壳聚糖水分散体系纳米粒于 Nanosep[®] 10 Ku 超滤离心管上端在 15 000 r/min 下离心 30 min, 取续滤液按“1.4.3.1”节中的色谱条件进行测定, 计算 EE、DL, 计算公式如下:

$$EE = (C - C_1) / C;$$

$$DL = W_1 / (W_1 + W_2)。$$

式中: C 表示总药物质量浓度; C_1 表示未包封药物质量浓度; W_1 表示包封药物质量; W_2 代表所有辅料总质量。

1.5 小檗碱壳聚糖纳米粒释放性能测定

精密量取 BR 纳米粒混悬液和 BR 溶液 2 mL 装于透析袋中, 置于盛有 PBS (pH 值为 7.4) 缓冲溶液的烧杯中, 低速搅拌, 分别于 0.25、0.50、0.75、1.00、2.00、3.00、4.00、6.00、8.00、10.00、12.00、24.00 h 取样, 每次取样 1 mL, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 并利用 HPLC 根据对应的标准曲线进行测定, 平行测量 3 次, 获取累积释放率^[16]。

1.6 小檗碱壳聚糖纳米粒光稳定性测试

取适量小檗碱与小檗碱壳聚糖纳米粒, 放置在

距离 16 W 的紫外灯 20 cm 处, 间隔一定时间取样 1 mL, 并利用 HPLC 根据对应的标准曲线测量小檗碱的含量, 并计算小檗碱的降解率, 来探究小檗碱壳聚糖纳米粒的抗光解性能。

1.7 叶面滞留量研究

采用叶面浸湿称取法测定小檗碱壳聚糖纳米粒在人参叶片表面的叶面滞留量, 每个处理 3 次重复, 同时以去离子水在叶片上的滞留量作为对照。取人参展叶期新鲜叶片, 使用无菌水冲洗叶片以减少试验误差, 待叶片自然晾干后, 利用直径为 1.5 cm 的打孔器, 打出大小相似的叶片圆片。测量叶面干重 W_1 , 将叶片完全浸没在小檗碱壳聚糖纳米粒溶液中 20 s, 将叶面取出, 并在叶面没有液滴滴落时记录重量 W_2 。滞留量 (Rr) 采用如下公式计算:

$$Rr = (W_2 - W_1) / S。$$

式中: S 为叶面积。

1.8 小檗碱壳聚糖纳米粒对人参黑斑病的防效测定

1.8.1 对菌丝生长的影响 处理组为质量浓度 200 mg/L 的小檗碱壳聚糖纳米粒溶液, 对照组为无菌水加入到融化至 40 ~ 50 $^{\circ}\text{C}$ 的 PDA 培养基中, 配制成含药培养基。将直径为 9 mm 的人参黑斑病菌接种到处理组和对照组 PDA 培养基中, 每皿接种菌饼 1 块, 每个处理重复 3 次, 置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养, 培养 6 d 后测量菌落直径, 菌丝生长抑制率采用如下公式计算。

菌落生长直径 = 重复试验菌落直径平均值 - 9 mm;

菌丝生长抑制率 = (对照菌落生长直径 - 处理菌落生长直径) / 对照菌落生长直径 \times 100%。

1.8.2 离体叶片试验防效测定 在培养皿中铺 1 层湿滤纸, 放入无菌载玻片。取人参展叶期新鲜叶片, 用 75% 乙醇消毒表面 20 s, 再用无菌水将表面乙醇冲洗干净, 随后放置在超净工作台晾干。使用无菌牙签对叶片进行创伤处理, 向叶片喷洒小檗碱壳聚糖纳米溶液, 将叶片放置在培养皿中的载玻片上, 在刺伤处接种人参黑斑病菌饼, 上述处理后, 置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中保湿培养 5 d。以喷洒无菌水作为对照, 每组处理 5 个重复, 病斑长度采用十字交叉法测量, 病斑面积由椭圆公式计算。

2 结果与分析

2.1 单因素考察

由表 1 可知, 壳聚糖负载小檗碱纳米粒粒径和

PDI 的主要影响因素包括:CS 与 TPP 浓度、药载质量比、搅拌速度与时间等处方和工艺因素,较优处方参数配比:CS、TPP 浓度为 0.5 mg/mL、药载质量比为 1:4、搅拌速度为 1 000 r/min、搅拌时间为 25 min。

表 1 单因素考察结果

因素	水平	粒径 (nm)	PDI
壳聚糖浓度 (mg/mL)	0.25	168.6	0.152
	0.50	142.8	0.161
	1.00	210.7	0.201
	1.50	507.7	0.256
TPP 浓度 (mg/mL)	0.25	174.7	0.158
	0.50	135.8	0.167
	1.00	188.2	0.185
	1.50	230.4	0.241
小檗碱与壳聚糖的质量比	1:1	146.6	0.203
	1:2	144.1	0.189
	1:4	151.4	0.154
	1:6	162.2	0.186
	1:8	158.3	0.181
搅拌时间 (min)	10	235.7	0.159
	15	197.2	0.166
	20	178.3	0.153
	25	151.0	0.138
	30	194.1	0.225
搅拌速度 (r/min)	600	216.1	0.235
	800	177.7	0.204
	1 000	141.2	0.146
	1 200	134.9	0.192
	1 500	369.3	0.633

2.2 小檗碱壳聚糖纳米粒的表征

2.2.1 粒径和 Zeta 电位测定以及外观形貌表征

图 1 为 BRCSNP 的透射电镜图,可以看出纳米粒为球形颗粒,粒径约为 150 nm。DLS 法测得小檗碱壳聚糖纳米粒平均粒径为 (141.8 ± 5.8) nm、PDI 为 0.17 ± 0.02 、Zeta 电位为 (22.7 ± 1.8) mV。

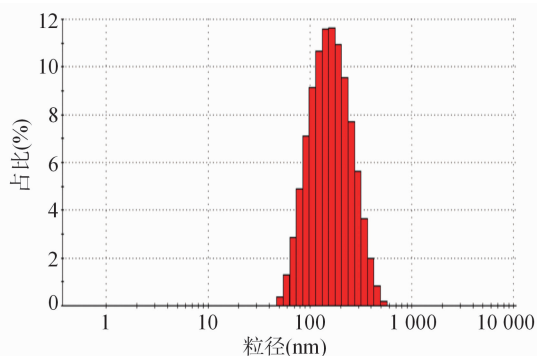
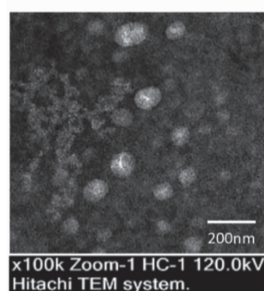


图1 BRCSNP 的透射电镜图及粒径分布

2.2.2 红外光谱分析 由红外图谱可知,BR、CS、TPP 物理混合结果基本上是峰的叠加,BR 特征峰 $1\,568.29\text{ cm}^{-1}$ 依然存在,主要吸收峰的位置和强度并没有明显的变化,而在 BECSNP 中,BR 特征峰发生了偏移且减弱,BR 在指纹区的一些特征峰 $1\,388.11$ 、 $1\,037.02\text{ cm}^{-1}$ 等消失可以推测 BR 与 CS、TPP 之间可能有氢键或范德力的形成(图 2)。

2.2.3 载药量及包封率

2.2.3.1 小檗碱标准工作曲线的建立 由小檗碱标样高效液相色谱图(图 3)可知,小檗碱的保留时间为 4.5 min。以谱图峰面积对小檗碱的质量浓度进行线性回归,得到小檗碱 HPLC 标准曲线为 $y = 71\,764x - 114\,880$ ($r^2 = 0.999$)。

2.2.3.2 载药量及包封率 研究结果表明,所制备的 BRCSNP 的包封率为 87.38%,载药量为 14.76%。

2.3 小檗碱壳聚糖纳米粒的释放性能分析

按照累计释放公式计算 BR 和 BRCSNP 的体外释放度,结果如图 4 所示,小檗碱原料药在 6 h 几乎释放完全,BRCSNP 在 24 h 累计释放达 72.31%,说明此时纳米粒中小檗碱还未被完全释放,表明载药纳米胶囊具有较好的缓释特性。其中纳米粒在 0.5 h 内累计释放量为 18.64%,呈现快速释放的现象,产生上述现象的原因为吸附纳米粒表面的药物释放。

2.4 小檗碱壳聚糖纳米粒的光稳定性

BR 水溶液和 BRCSNP 抗紫外性能见图 5。由图 5 可知,在紫外灯照射下未包封的 BR 降解率较高,在 72 h 后降解率为 51.4%,而 BRCSNP 降解率仅为 39.7%,这是由于 CS 载体作为物理屏障阻隔了紫外光照射,减弱了紫外线对 BR 的照射分解,从而减缓了 BR 的光降解速率。小檗碱在抗光解性能方面,远优于化学农药分子。

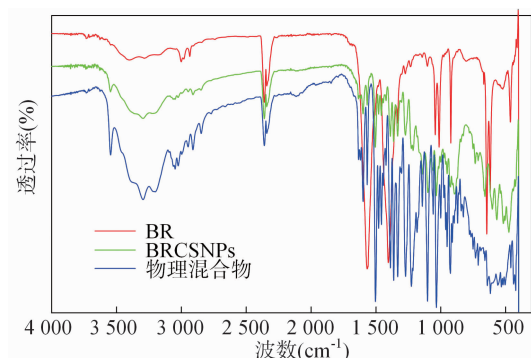


图2 BRCSNP 的 FTIR 谱图

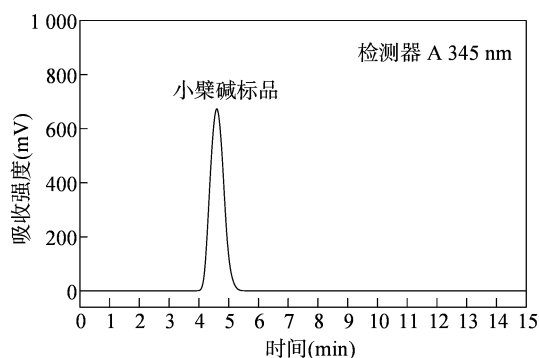


图3 小檗碱标品的高效液相色谱图

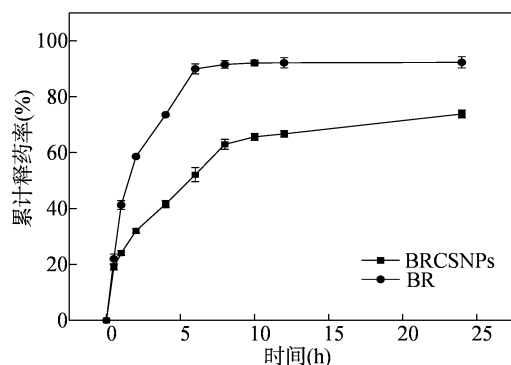


图4 BR 水溶液及 BRCSNP 的体外累计释放曲线

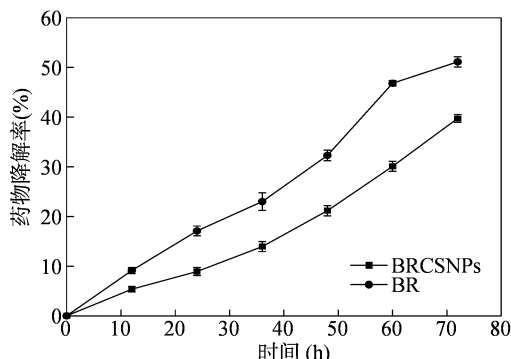


图5 BRCSNP 在紫外光照射下的降解率

2.5 小檗碱壳聚糖纳米粒叶面滞留量

润湿性是评判农药药效的指标之一,高黏附性会提高叶面药液滞留率,减少农药喷施次数,提高

利用率^[17]。本试验通过对比 BRCSNP、BR 水溶液、去离子水在人参叶片上的叶面滞留量来表征农药的润湿性,结果见图 6。BR 水溶液在叶面的滞留量为 17.74 mg/cm²,而 BRCSNP 的滞留量最高是 28.51 mg/cm²,比 BR 水溶液提高了 60.71%,说明封装的 BR 具有良好的黏附能力,壳聚糖载体材料可有效提高叶面滞留量,提高叶面润湿性能,有利于农药的减施增效。

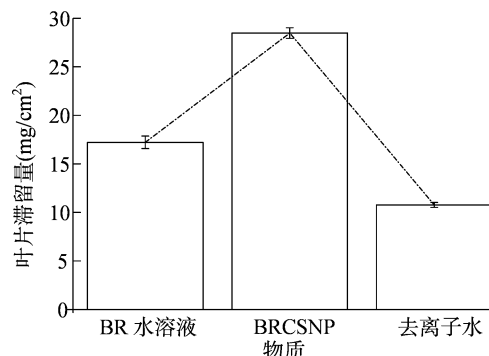


图6 BR 水溶液、BRCSNP 和去离子水在叶面上的滞留量

2.6 小檗碱壳聚糖纳米粒对人参黑斑病的防效测定结果

2.6.1 小檗碱壳聚糖纳米粒对人参黑斑病菌的抑菌活性 在 PDA 平板中培养 6 d 后,经测量 BRCSNP 处理组的抑菌率为 53.1%,对比对照组菌落已经长满平板,处理组对菌丝生长抑制作用明显(图 7)。

2.6.2 离体叶片试验防效测定 在接种人参链格孢菌饼 7 d 后,经 BRCSNP 处理的人参叶片未出现明显病斑,对照组叶片出现大块黄褐色病斑;病斑直径约为 2.07 cm, BRCSNP 对人参链格孢的抑制率为 74.91%,表明 BRCSNP 对人参链格孢侵染离体叶片具有良好的防治效果(图 8)。

3 结论与讨论

针对小檗碱在人参黑斑病防治方面应用受限难题,本研究利用离子凝胶法制备小檗碱壳聚糖纳米粒(BRCSNP)并进行处方工艺优化。利用带有正电荷的壳聚糖和带有负电荷的小檗碱,在交联剂的作用下,通过离子交联法并进行处方工艺优化制得粒径为 156.8 nm、PDI 为 0.171 的球形纳米粒 BRCSNP,并测得其包封率为 87.38%,载药量为 14.76%。滞留率结果表明, BRCSNP 所具备的独特的尺寸效应和表面效应,可以增加与生物界面的接触面积,提升在植物人参叶片表面的滞留和积累,更好地发挥药效。小檗碱天然抗菌活性小分子主要

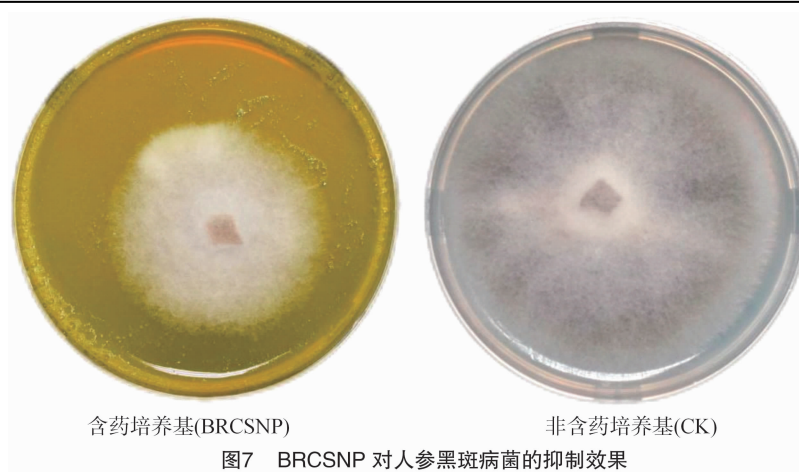


图7 BRCSNP 对人参黑斑病菌的抑制效果

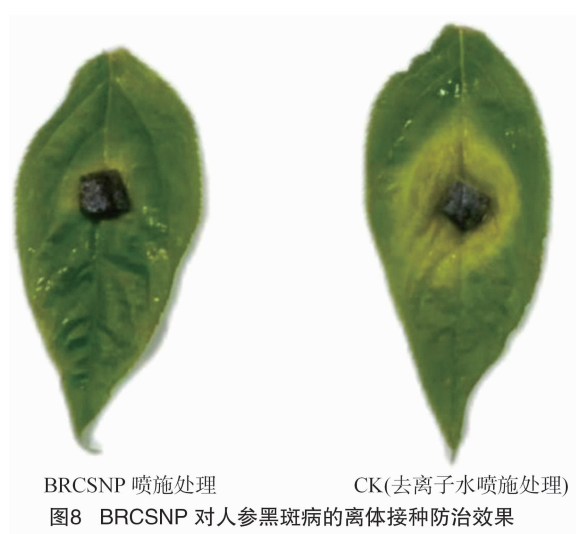


图8 BRCSNP 对人参黑斑病的离体接种防治效果

通过静电作用加载到 CSNP 内部,并受到载体的保护,改善了其抗紫外光解性能,有效提高药物稳定性。在人参黑斑病的防效测定中,室内菌丝生长速率法以及离体叶片法的测定结果均表明 BRCSNP 对人参黑斑病具有良好的防治效果,其中给药于叶片的抑菌率高达约 74.91%,表现结果较好,表明本试验植物源农药纳米制剂具有良好的植物病害防治前景,对促进植物源农药的发展具有理论与试验参考价值。

参考文献:

- [1] 张宁,张晶晶,李雅淑,等. 人参黑斑病生防菌的分离鉴定及防效[J]. 中国生物防治学报,2022,38(5):1308-1315.
- [2] Kalia A N, Gosal S K. Effect of pesticide application on soil microorganisms[J]. Archives of Agronomy and Soil Science,2011,57(6):569-596.
- [3] 杨名佳,刘丽萍,王雪,等. 枯草芽孢杆菌菌剂对人参黑斑病的生物防治效果[J]. 菌物研究,2021,19(2):134-138.
- [4] 王森,周杰,陈鸽,等. 纳米生物农药的设计及控缓释研究

进展[J]. 江苏农业科学,2023,51(17):9-18.

- [5] Abdelaziz A M, Elshaer M A, Abd - Elraheem M A, et al. Ziziphus spina - christi extract - stabilized novel silver nanoparticle synthesis for combating *Fusarium oxysporum* - causing pepper wilt disease; *in vitro* and *in vivo* studies[J]. Archives of Microbiology,2023,205(2):69.
- [6] 王彩霞,兰妍彦,孟衍朴,等. 87 种植物提取物抑菌活性初步研究[J]. 植物保护,2023,49(4):293-301.
- [7] 安福涛,刘欣宇,孙富余. 6 种植物源农药在黄瓜白粉病防治中的应用效果[J]. 中国植保导刊,2023,43(5):63-65.
- [8] 杨萍. 黄连素临床应用及研究的新进展[J]. 天津药学,2011,23(3):69-72.
- [9] 邝芷琪,王少婷,黄伦,等. 小檗碱的农用活性研究进展[J]. 农药,2017,56(2):88-93.
- [10] 蒋蕾,孙旭,刘肖莹,等. 小檗碱纳米制剂的制备及表征研究[J]. 中医药信息,2022,39(3):16-19.
- [12] Pascoli M, Lopes - Oliveira P J, Fraceto L F, et al. State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications; a minireview[J]. Energy, Ecology and Environment, 2018,3(3):137-148.
- [13] Yang Y, Cheng J G, Garamus V M, et al. Preparation of an environmentally friendly formulation of the insecticide nicotine hydrochloride through encapsulation in chitosan/tripolyphosphate nanoparticles[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018,66(5):1067-1074.
- [14] Aloui H, Khwaldia K, Licciardello F, et al. Efficacy of the combined application of chitosan and Locust Bean Gum with different citrus essential oils to control postharvest spoilage caused by *Aspergillus flavus* in dates[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014,170:21-28.
- [15] 李思慧,李娜,关志宇,等. 星点设计效应面法优化葛根素改性壳聚糖纳米粒的处方与工艺研究[J]. 江西中医药大学学报,2023,35(5):73-79.
- [16] 沈殿昌,张铭瑞,陈小军,等. 基于介孔二氧化硅的鱼藤酮纳米颗粒的制备及其性能研究[J]. 农药学报,2020,22(6):1061-1068.
- [17] 王淑芬,齐新慧,丁运生,等. PVC-co-ACM 胶乳粒子稳定的多菌灵水悬浮剂及其性能研究[J]. 农药,2022,61(2):96-101.