



韦庆慧,宋伟丰,翟喜海,等.白屈菜红碱悬浮剂的研发及其对盐碱地水稻稻曲病的田间防治研究[J].黑龙江农业科学,2022(8):47-51.

白屈菜红碱悬浮剂的研发及其对盐碱地水稻稻曲病的田间防治研究

韦庆慧^{1,2},宋伟丰^{1,2},翟喜海^{1,2},焦占力^{1,2},刘凯^{1,3},来永才^{1,3}

(1. 国家耐盐碱水稻技术创新中心东北中心,黑龙江 哈尔滨 150086;2. 黑龙江省农业科学院植物保护研究所,黑龙江 哈尔滨 150086;3. 黑龙江省农业科学院,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为开发低毒、环保的植物源农药,对盐碱地水稻稻曲病进行生物防治,以白屈菜红碱(Chelerythrine)及耐盐碱水稻品种通系 926 为材料,筛选适宜助剂,最终研发了以白屈菜红碱为主要成分的悬浮剂农药配方,并比较不同浓度悬浮剂对盐碱地水稻稻曲病菌的田间防治效果。结果表明,该悬浮剂农药喷施两次,对稻曲病的田间防治效果较好,当有效成分用量为 $192 \text{ mL} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时,防治效果达 95.88%,高于对照药剂,具有残留低、环境友好等特点。

关键词:白屈菜红碱;悬浮剂配方;稻曲病;田间防治效果

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



水稻是世界三大粮食作物之一,其病害严重影响粮食生产安全。近些年,稻曲病的发生日趋严重,已成为我国水稻主要的真菌病害之一,稻曲病是由半知菌亚门稻绿核菌(*Ustilaginoidea virens*)引起的真菌病害,绿核菌可侵入水稻胚根和幼根,在表皮细胞中进行生长。研究表明,绿核菌的侵入点是水稻的幼颖和花器,侵入过程是在水稻孕穗期到破口期之间,阻止了水稻灌浆,最后形成稻曲球,从而导致水稻病害发生^[1]。

白屈菜红碱是传统中草药白屈菜中含量最丰富的生物碱之一,是一种有效的炎症抑制剂,对癌细胞具有致死作用而不影响正常细胞,从而提高患者的生存率。范海延等^[2]发现,白屈菜红碱对镰刀菌、炭疽菌和灰霉菌等农作物病原菌的菌丝生长有很强的抑制作用。其药理作用已得到充分证明,包括选择性抑制蛋白激酶 C,抗炎和抗肿瘤活性^[3-5]。本课题组前期研究表明,白屈菜红碱对真菌孢子萌发的抑制率高达 86.7%,并能够诱导稻绿核菌细胞凋亡^[6]。可见研发以白屈菜红碱为原药的绿色生物农药对促进农业生产和环境保护具有可行性。

农药是保障农业生产的重要手段,为农业发展做出了巨大贡献。然而,由于长期反复使用化学农药,病虫害逐渐产生抗性,威胁着人畜健康^[7]。因此,开发低毒、环保的生物农药防治病虫害越来越受到重视。农药剂型涉及环境保护和人身安全,一些发达国家已经完成了从乳油等落后剂型向水基环保剂型的转变。环境友好型农药制剂愈加受到重视^[8]。近年来,落后的制剂比例由 2000 年以前的 70% 以上,下降到目前的 55% 左右^[9]。水基剂型悬浮剂具有粒径细、悬浮率高、无粉尘等特点。用水稀释后,更容易吸附和涂抹在目标作物表面,效率高且环保^[10]。因此,本研究开发以白屈菜红碱作为主要活性成分的悬浮剂,并将其应用于耐盐碱水稻品种通系 926,考察其对稻曲病的田间生物防治效果,以期对白屈菜红碱适宜剂型生物农药的开发及应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 白屈菜红碱提取物(含量为 16%);分散润湿剂:Atlox 4913(英国禾大公司)、Genapol X080(科莱恩化工有限公司)、Dispersogen 1494 liq(科莱恩化工有限公司)、Ultrazine NA(鲍利葛工业有限公司)、SOPROPHOR SC(索尔维集团)、Ethylan NS-500LQ(阿克苏诺贝尔公司);消泡剂:Sag1522(迈图高新材料集团);增稠剂:硅酸铝镁 SK-05(苏州中材矿物材料有限公司)、黄原胶(市售)、卡松(市售);防冻剂:尿素(市售)、丙三

收稿日期:2022-05-26

基金项目:黑龙江省省属科研院所科研业务费项目“国家耐盐碱水稻技术创新中心东北中心建设”(CZKYF2020A001)。

第一作者:韦庆慧(1987—),女,博士,助理研究员,从事植物源农药研究。E-mail:weiqinghui@126.com。

通信作者:宋伟丰(1982—),男,博士,副研究员,从事农药学研究。E-mail:songweifeng2000@163.com。

醇(市售);去离子水。

1.1.2 供试水稻 田间试验水稻品种为耐盐碱水稻通系 926,试验地点为肇源县国家耐盐碱水稻技术创新中心东北中心肇源试验站。

1.2 白屈菜红碱悬浮剂的制备

1.2.1 助剂的筛选 (1)润湿分散剂的选择:采用流动点法确定润湿分散剂,首先配制 5%的润湿分散剂水溶液,取 10 g 的白屈菜红碱提取物粉末,用移液管将配制好的分散剂溶液慢慢加入细粉末上,同时用玻璃棒不断搅拌,直到混合物的浆液从玻璃棒上滴下,记录所用溶液的体积,计算单位质量有效成分所需溶液的体积,这个量即为流点^[11]。

(2)增稠剂的选择:先后筛选黄原胶、镁铝硅酸盐及其不同组合,观察样品的流动性以及热储后水的分离情况,计算热储析水率。

(3)防冻剂的选择:选用常用的防冻剂丙二醇、丙三醇、尿素制备冷藏样品,并观察低温稳定性。

1.2.2 白屈菜红碱悬浮剂配方的筛选及表征 按前期试验设计筛选的助剂配比要求,采用湿法超微粉碎法进行制备。称取分散剂、润湿剂、硅酸镁铝、防冻剂,去离子水补足,混合剪切后继续加入有效成分白屈菜红碱原药直至剪切均匀,经砂磨机 2 000 r·min⁻¹ 研磨 1 h,粒径达到要求后,将物料转入烧杯加入适量增稠剂剪切 10 min,得到悬浮剂样品,对该悬浮剂进行性能检测,以及红外光谱分析、高效液相色谱分析和粒度分析。

1.3 白屈菜红碱悬浮剂田间防效试验

1.3.1 试验设计 试验共设 6 组处理,分别为:清水对照组 CK(没有药物);处理 1:白屈菜红碱悬浮剂 1 500 mL·hm⁻² (白屈菜红碱提取物的含量是 16%,悬浮剂含量为 10%,有效成分含量相当于 24 mL·hm⁻²,以下组别设置均以此种方式换算);处理 2:白屈菜红碱悬浮剂 3 000 mL·hm⁻² (有效成分含量相当于 48 mL·hm⁻²);处理 3:白屈菜红碱悬浮剂 6 000 mL·hm⁻² (有效成分含量相当于 96 mL·hm⁻²);处理 4:白屈菜红碱悬浮剂 12 000 mL·hm⁻² (有效成分含量相当于 192 mL·hm⁻²);阳性对照组为井冈霉素(Validamycin)13%,532.5 mL·hm⁻² (有效成分含量相当于 69 mL·hm⁻²)。3 次重复,每组 60 m²,随机区组分布。

1.3.2 测定项目及方法 耐盐碱水稻破口期前 7 d 左右喷施 1 次,10 d 后再喷施 1 次。在齐穗期

考察防治效果。各处理采用“Z”字形五点抽样法进行调查,每个点调查 5 丛,每个处理调查 25 丛耐盐碱水稻。统计稻曲病病情指数,计算防治效果。病情指数的计算采用新分级标准:0 级,未发病;1 级,1 个稻曲球;2 级,2 个稻曲球;3 级,3~5 个稻曲球;4 级,6~9 个稻曲球;5 级,10 个以上稻曲球。具体计算公式如下:

病情指数 = \sum (各级病株数 × 相应级数值) / (调查总株数 × 9) × 100

防治效果 (%) = (对照区病情指数 - 处理区病情指数) / 对照区病情指数 × 100

1.4 数据分析

运用 DPS 15.0 软件进行数据的统计分析,显著性分析采用单因素方差分析方法中的最小极差法(Least significant ranges, LSD)。

2 结果与分析

2.1 白屈菜红碱悬浮剂助剂的筛选

2.1.1 润湿分散剂 在农药悬浮剂的初步筛选中,对于同一种活性剂通常采用流点法^[12],分散剂的流动点越低,越有利于提高悬浮率^[13]。测定结果如表 1 所示,流点值由高到低排序,最后 3 个值为 2.28,1.46 和 1.09,分别对应助剂 Dispersogen 1494 Liq、Genapol X080 和 Atlox 4913。其他助剂的筛选在选择以上 3 种物质的基础上进一步开展。设计了 6 个组合方案(表 2),经过综合比较最终选择 6# 作为基本方案。

表 1 润湿分散剂的流点

| 助剂 | 流点 |
|----------------------|------|
| Ultrazine NA | 5.31 |
| SOPROPHOR SC | 4.16 |
| Ethylan NS-500LQ | 2.68 |
| Dispersogen 1494 liq | 2.28 |
| Genapol X080 | 1.46 |
| Atlox 4913 | 1.09 |

2.1.2 增稠剂 不同增稠剂的测定结果详见表 3。经比较,最终选定增稠剂为黄原胶+硅酸铝镁(0.1%+0.5%)。

2.1.3 防冻剂 选择常用防冻剂制备样品,观察低温稳定性。分别选用丙二醇、丙三醇和尿素制备样品进行冷储,低温稳定性均合格,未结冻。

经过比较,确定最佳配方组合,如表 4 所示,白屈菜红碱 10.0 g, Atlox 4913 4.0 g, Genapol X080 2.0 g, 丙三醇 5.0 g, 硅酸镁铝 0.5 g, 黄原胶+卡松 0.1 g, Sag1522 0.2 g, 去离子水补足。

表 2 基本配方筛选

| 原料 | 1 | 2# | 3# | 4# | 5# | 6# |
|------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 白屈菜红碱提取物粉末/g | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| Atlox 4913/g | 5.0 | 5.0 | - | 2.0 | 2.0 | 4.0 |
| Genapol X080/g | 1.0 | 2.0 | 2.0 | 1.0 | 1.0 | 2.0 |
| Dispersogen 1494 liq/g | 2.0 | - | 5.0 | 5.0 | 2.0 | - |
| 尿素/g | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| Sag1522/g | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| 去离子水/g | 补足至 100 | 补足至 100 | 补足至 100 | 补足至 100 | 补足至 100 | 补足至 100 |
| 砂磨后现象 | 流动性正常 | 流动性正常 | 膏化 | 比较粘稠 | 比较粘稠 | 流动性正常 |

表 3 增稠剂的筛选

| 增稠剂 | 用量/% | 流动性 | 热储稳定性 | 热储析水率/% |
|----------|---------|-----|-------|---------|
| 黄原胶 | 0.1 | 优 | 析水 | 27 |
| 黄原胶 | 0.2 | 良 | 析水 | 22 |
| 黄原胶+硅酸铝镁 | 0.1+0.5 | 优 | 析水 | 14 |
| 黄原胶+硅酸铝镁 | 0.2+0.5 | 良 | 析水 | 12 |

2.2 白屈菜红碱悬浮剂的表征分析

如图 1 红外光谱所示,1 379.07 cm⁻¹是 CH₃ 对称变角的伸缩振动峰,1 463.48 cm⁻¹是 CH₂ 烷烃变角的伸缩振动峰,1 618.36 cm⁻¹是羧酸根 COO 反对称伸缩的振动峰,2 919.38 cm⁻¹是 CH₂ 烷烃反对称伸缩的伸缩振动峰,3 413.90 cm⁻¹是

芳香族仲胺 NH 伸缩的振动峰。与白屈菜红碱化学结构比对,判断合成悬浮剂的主要成分为白屈菜红碱。

表 4 最优配方的筛选

| 原料 | 用量/g |
|--------------|---------|
| 白屈菜红碱 TC | 10.0 |
| Atlox 4913 | 4.0 |
| Genapol X080 | 2.0 |
| 丙三醇 | 5.0 |
| 硅酸铝镁 | 0.5 |
| 黄原胶+卡松 | 0.1 |
| Sag1522 | 0.2 |
| 去离子水 | 补足至 100 |

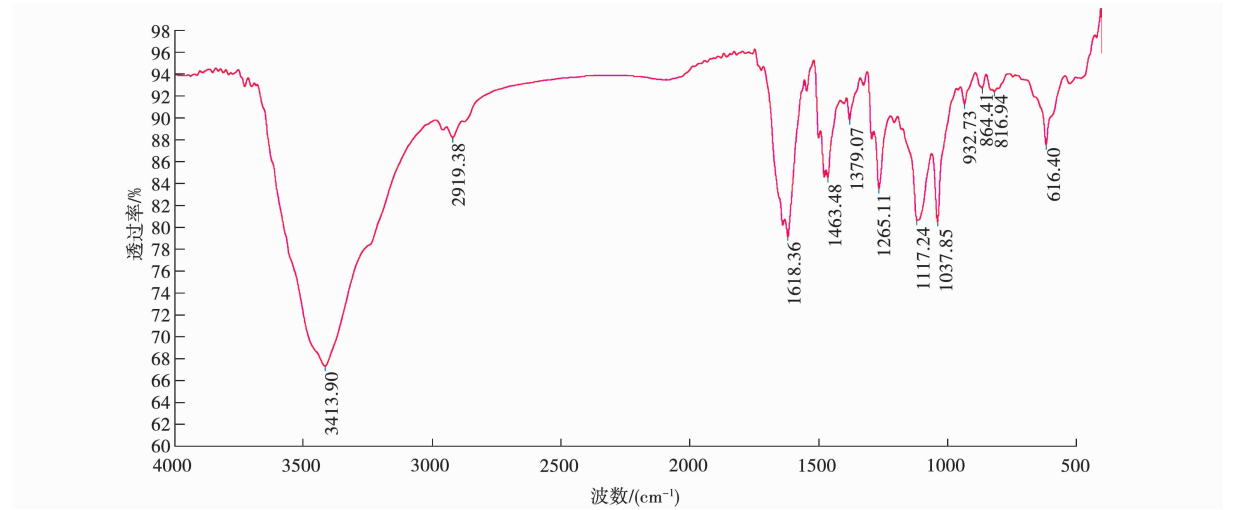


图 1 白屈菜红碱悬浮剂的红外光谱 (FT-IR) 图

经高效液相色谱检测,悬浮剂的特征吸收峰出现在 6.751 min,对比标准品的特征吸收峰保留时间,判断白屈菜红碱悬浮剂的主要成分为白屈菜红碱(图 2)。

该悬浮液为橙红色液体悬浮液,流动方便,体积可测,无结块现象。质量控制指标为 pH6.11,悬浮液浓度≥80%。湿筛试验结果≥99%。粒径分布

上,大于与小于 3.59 μm 粒径的颗粒累积分布均为 50%(D₅₀=3.59 μm),小于 19.50 μm 粒径的颗粒体积含量占全部颗粒的 90%(D₉₀=19.50 μm)。持久起泡性试验中测得泡沫体积≤25 mL。倾倒后残留量≤5%,漂洗后残留量≤0.5%。该悬浮剂中分散相的粒径分布总体比较集中,悬浮液中大颗粒粒径所占的比例相对较少,在水中分散比较均匀(图 3)。

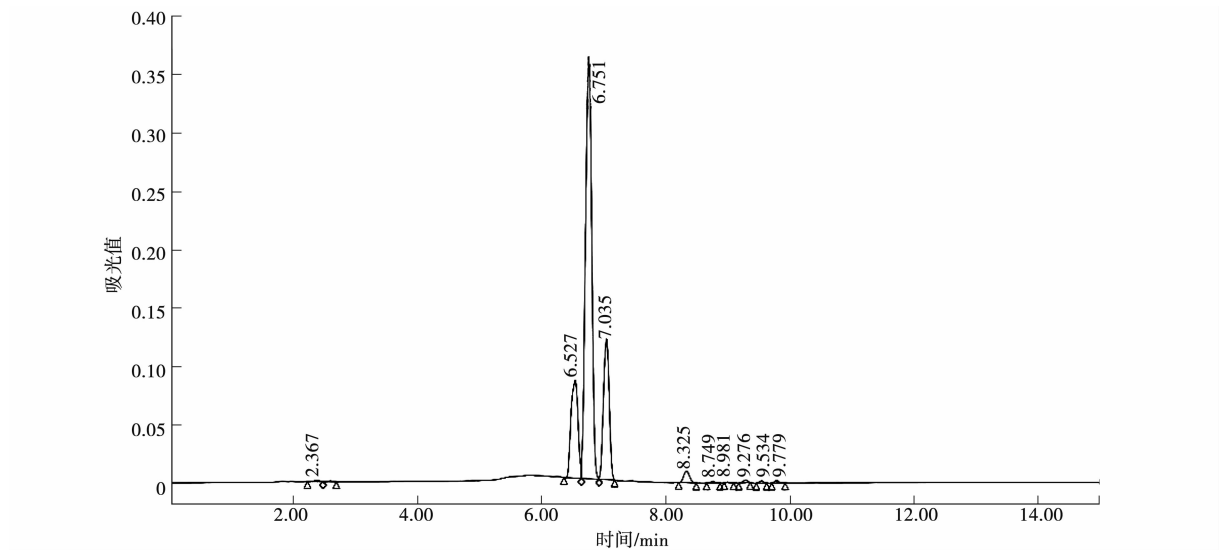


图 2 白屈菜红碱悬浮剂的高效液相色谱 (HPLC) 图

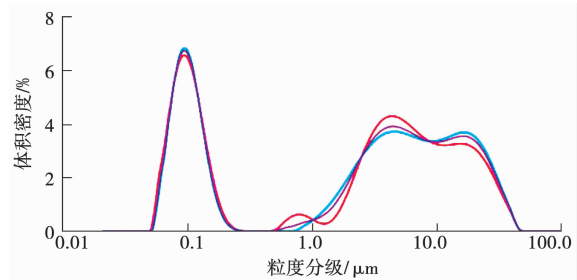


图 3 白屈菜红碱悬浮剂的粒度分析

2.3 田间生物防治稻曲病效果评价

田间喷施 2 次后,对照组 CK 病情指数为 1.78。处理 4 病情指数为 0.07,防治效果为 95.88%,效果最好。处理 2 病情指数为 0.52,防治效果为 70.97%。阳性对照并冈霉素处理的病情指数为 0.78,防治效果为 56.18%。可见,处理 2(有效成分含量 48 mL·hm⁻²)对盐碱地稻曲病具有良好的防控效果。

表 5 植物源农药白屈菜红碱对稻绿核菌的田间防治效果

| 处理 | 药剂使用剂量/(mL·hm ⁻²) | 有效成分含量/(mL·hm ⁻²) | 病情指数 | 防效/% |
|------|-------------------------------|-------------------------------|------------|---------------|
| CK | 0 | 0 | 1.78±0.034 | - |
| 1 | 1500 | 24 | 0.93±0.022 | 48.01±0.09 c |
| 2 | 3000 | 48 | 0.52±0.031 | 70.97±0.23 ab |
| 3 | 6000 | 96 | 0.26±0.015 | 85.58±0.12 a |
| 4 | 12000 | 192 | 0.07±0.021 | 95.88±0.16 a |
| 阳性对照 | 532.5 | 69 | 0.78±0.017 | 56.18±0.07 bc |

注:不同小写字母表示在 $P\leq 0.05$ 水平差异显著。

3 讨论

稻曲病(Rice False Smut,RFS)是由稻绿核菌(*Ustilaginoidea virens*)引起的一种病害,广泛分布于各水稻产区,包括耐盐碱水稻产区。该病害不仅影响水稻的产量和品质,还会对人类和牲畜产生有害毒素^[14]。化学农药是控制作物病害最有效的方法,但长期重复使用可能导致农药抗性和环境中有害残留物的积累。因此,迫切需要开发环境兼容的方法来控制作物病害,而植物源杀菌剂是一个重要的研究方向。

本研究中的水基悬浮液是一种较为复杂的多组分非均质粗分散悬浮体系,连续相是含有不同

分散剂的水溶液,分散剂作为悬浮剂的基本组成部分,有助于制剂稳定发挥作用。它吸附在原药预混颗粒表面,润湿活性成分与水混合物中的颗粒表面,排出颗粒间的空气。在研磨过程中,它在颗粒周围形成双层扩散层,产生电势,从而阻碍粒子间的聚集和结合,防止沉淀的形成,从而增加悬浮剂的稳定性。

Zhao 等^[15]比较了几种杀菌剂对稻曲病的防治效果,发现 75% 脲菌·戊唑醇 WG (300 g·hm⁻²,有效成分 225 g·hm⁻²)和 32.5% 苯甲·嘧菌酯 SC (600 mL·hm⁻²,有效成分 195 mL·hm⁻²)的防治效果较好,分别为 100%和 76.4%。林蔚红等^[16]

研究发现,40%丙硫·戊唑醇($750\text{ mL}\cdot\text{hm}^{-2}$,有效成分 $300\text{ mL}\cdot\text{hm}^{-2}$)喷施2次后防治效果为89.6%。夏丽娟等^[17]研究表明,60%氟环唑·三环唑可湿性粉剂(质量比1:3)288~360 $\text{g}\cdot\text{hm}^{-2}$ (有效成分含量288~360 $\text{g}\cdot\text{hm}^{-2}$)对稻曲病的防治效果,“川绿优188”为76.2%~83.6%。“川绿优4923”为62.6%~79.5%。本研究中白屈菜红碱悬浮剂的有效成分为192 $\text{mL}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时,防治效果为95.88%,防效优于上述研究。因此,开发白屈菜红碱农药具有重要的现实意义。

4 结论

本试验筛选了以白屈菜红碱为原药的悬浮剂配方,白屈菜红碱10.0 g,Atlox 4913 4.0 g,Genapol X080 2.0 g,丙三醇5.0 g,硅酸铝镁0.5 g,黄原胶+卡松0.1 g,Sag1522 0.2 g,去离子水补足。该白屈菜红碱悬浮剂农药制剂喷施两次后,对盐碱地水稻稻曲病的田间防治效果较好,当有效成分含量为192 $\text{mL}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时,防治效果为95.88%,达到了防治目标。白屈菜红碱悬浮剂是一种低毒药剂,具有环境友好型植物农药的特性,可以作为植物源农药进一步开发和应用。

参考文献:

[1] 祝浩文,张亚玲.水稻稻曲病原菌研究及其综合防治技术[J].安徽农学通报,2018,24(20):76-78.
[2] 范海延,薛广厚,吕春茂,等.白屈菜中白屈菜红碱的提取及抑菌活性[J].食品科学,2009,30(24):126-129.
[3] HU B,XU G,ZHENG Y,et al. Chelerythrine attenuates renal ischemia/reperfusion-induced myocardial injury by activating CSE/H2S via PKC/NF- κ B pathway in diabetic rats[J]. Kidney & Blood Pressure Research,2017,42(2):379-388.
[4] SAAVEDRA A,FERNÁNDEZ G S,CASES S,et al. Chelerythrine promotes Ca^{2+} dependent calpain activation in neuronal cells in a PKC-independent manner[J]. BBA-General Subjects,2017,1861(4):922-935.

[5] ZHU Y Z,PAN Y Y,ZHANG G B,et al. Chelerythrine inhibits human hepatocellular carcinoma metastasis *in vitro* [J]. Bioclinical Pharmaceutical Bulletin,2018,41(1):36-46.
[6] WEI Q H,CUI D Z,LIU X F,et al. *In vitro* antifungal activity and possible mechanisms of action of chelerythrine [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology,2020,164:140-148.
[7] ARIENZO M,CATALDO D,FERRARA L. Pesticide residues in fresh-cut vegetables from integrated pest management by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. Food Control,2013,31(1):108-115.
[8] TSUJI K. Microencapsulation of pesticides and their improved handling safety[J]. Journal of Microencapsulation,2001,18(2):137-147.
[9] 张金艳,王延锋,王志军.我国农药剂型加工工业的现状和发展建议[J].黑龙江农业科学,2001(2):39-41.
[10] 徐汉虹,张志祥,查友贵.中国植物性农药开发前景[J].农药,2003(3):1-10.
[11] FREI B,SCHMID P. Development trends in pesticide formulation and packaging[M]// FOY C L,PRITCHARD D W. Pesticide formulation and adjuvant technology,CRC Press,2018:33-42.
[12] XIE H L,WANG J H. Study on suspension of seed dressing agent by polynaphthalene sulfonate system[J]. Chinese Journal of Agricultural Pharmacology,2003,42(3):21-23.
[13] 郝汉,马超,冯建国,等.聚羧酸盐分散剂在吡虫啉颗粒表面的吸附特性[J].化工学报,2013,64(8):2898-2906.
[14] TANAKA E,ASHIZAWA T,SONODA R,et al. Villoclavella virens gen. nov., comb. nov., teleomorph of Ustilaginoidea virens, the causal agent of rice false smut[J]. Mycotaxon,2008,106(1):491-501.
[15] ZHAO M,CHEN J L,YIN W,et al. Experimental study on the control effect of five fungicides on rice sheath blight and rice smut disease[J]. Biohazard Science,2021,44(3):300-304.
[16] 林蔚红,居梦婷,沈秋兰,等.丙硫·戊唑醇对粳杂交稻稻曲病的防效[J].浙江农业科学,2021(11):2246-2247.
[17] 夏丽娟,任丹,万莉.氟环唑与三环唑复配对水稻纹枯病和稻曲病的联合生物活性及田间防效[J].农药,2021,60(9):682-686.

Research of Chelerythrine Suspension and Its Field Control Effects on Rice False Smut in Saline Alkali Soil

WEI Qing-hui^{1,2}, SONG Wei-feng^{1,2}, ZHAI Xi-hai^{1,2}, JIAO Zhan-li^{1,2}, LIU Kai^{1,3}, LAI Yong-cai^{1,3}

(1. Northeast Branch of National Center of Technology Innovation for Saline-Alkali Tolerant Rice, Harbin 150086, China; 2. Institute of Plant Protection, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 3. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to develop low toxicity and environmental friendly botanical pesticides, and biocontrol the rice false smut in saline alkali soil, chelerythrine and salt tolerant rice variety Tongxi 926 were used as materials to screen suitable additives, and finally developed a suspension pesticide formula with chelerythrine as the main component. We also compared the field control effects of different concentrations of suspension agents on rice false smut in saline alkali soil. The results showed that the suspension pesticide sprayed twice had a good field control effect on rice false smut. When the effective component was 192 $\text{mL}\cdot\text{ha}^{-1}$, the control effect was 95.88%, which was higher than that of the control agent. It had the characteristics of low residue, environmental friendliness and so on.

Keywords: chelerythrine; suspension concentrate formulation; rice false smut; field control effect