水溶性氟乐灵纳米制剂对向日葵列当的毒力及田间药效

路 伟[#*]， 李 琳[#]， 李世奎， 赵娜娜

（新疆农业大学农学院，乌鲁木齐 830052）

摘要 向日葵列当 *Orobanche cumana* 是一种检疫性恶性寄生杂草。本研究采用透析法制备了一种水溶性氟乐灵纳米制剂(Tf-OR-CC)，评价其对向日葵列当的室内毒力和田间药效。种子发芽毒力测定结果表明：在独脚金内酯类似物 GR24 的诱导下，用 5 μg/mL Tf-OR-CC 处理向日葵列当种子，7 d 后表现出良好的抑制发芽活性，列当种子发芽率为 28.5%，与对照相比差异显著。消解动态试验表明，Tf-OR-CC 消解半衰期比 48%氟乐灵乳油延长 6.56 d，说明 Tf-OR-CC 具有一定的缓释作用。田间药效试验结果表明，滴灌施用有效成分含量为 75 g/667 m^2 Tf-OR-CC 45 d 后，向日葵列当寄生率为 32.1%，寄生强度为 5.3，Tf-OR-CC 制剂对向日葵列当的田间防效为 36.3%。该方法可为向日葵滴灌施药技术防治向日葵列当提供科学依据。

关键词 氟乐灵； 向日葵列当； 毒力； 消解动态； 田间药效

中图分类号： S 451.2 **文献标识码：** B **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2018220

Virulence determination and field efficacy evaluation of water-soluble trifluralin nanoparticles against *Orobanche cumana*

LU Wei， LI Lin， LI Shikui， ZHAO Nana

（*College of Agronomy*，*Xinjiang Agricultural University*，*Urumqi* 830052，*China*）

Abstract *Orobanche cumana* is a quarantine and malignant parasitic weed. A water-soluble trifluralin nanoparticles (Tf-OR-CC) were prepared by dialysis method to evaluate virulence and field efficacy against *O. cumana*. The seed germination test showed that Tf-OR-CC nanoparticles had good effect on inhibiting the germination of *O. cumana* seeds at 5 μg/mL. After 7 days, the germination rate of the Tf-OR-CC was 28.5%, significantly lower than that of the control. The degradation dynamic test showed that degradation rate of the half-time of Tf-OR-CC nanoparticles was 6.56 days, longer than that of trifluralin 48% EC, indicating that Tf-OR-CC has a certain sustained-release effect. Field trials demonstrated that parasitism rate of *O. cumana* was 32.1% and parasitic intensity was 5.3 after 45 days of drip irrigation with 75 g/667 m^2 Tf-OR-CC nanoparticles, significantly lower than that of the control, and the efficacy of Tf-OR-CC nanoparticles against *O. cumana* was 36.3%. The method can provide scientific basis for controlling *O. cumana* by drip irrigation.

Key words trifluralin； *Orobanche cumana*； virulence； degradation dynamic； field efficacy

我国是向日葵 *Helianthus annuus* 生产大国，年种植面积 118 万 hm^2[1]。向日葵在我国的主要种植区分布在内蒙古、新疆、黑龙江等地，其中新疆约占全国总产量的 20%[2]。向日葵田主要杂草有中亚滨藜 *Atriplex centralasiatica*、碱蓬 *Suaeda glauca*、向日葵列当 *Orobanche cumana*、反枝苋 *Amaranthus retroflexus*、野燕麦 *Avena fatua* 等，尤其以向日葵列当危害最为严重[3]。

向日葵列当是一种一年生全寄生杂草，又称毒根草、兔子拐棍，属双子叶草本植物，列当科列当属[4]。其寄主专化性较强，依靠摄取寄主向日葵的养分而生存，受害严重的地块，寄生率高达 75%以

收稿日期： 2018－05－24 **修订日期：** 2018－07－23
基金项目： 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2015211B011)
* 通信作者 E-mail：teerakon@sina.com
# 为并列第一作者

上[5]。生长早期被向日葵列当寄生的植株生长缓慢、茎秆低矮纤弱，花盘不能发育完全；后期被寄生则籽粒瘪小、含油率下降，严重的全株枯死[6]。因此 2007 年向日葵列当已被我国国家质量监督检验检疫总局列为检疫性恶性寄生杂草[7-8]。

目前用于防治向日葵列当的农药主要有 48%地乐胺乳油、48%氟乐灵乳油、5%精喹禾灵乳油、72% 2,4-D 丁酯乳油、10%草甘膦乳油等，但由于传统的土表喷雾施药存在缺陷，例如地乐胺、氟乐灵等原药水溶性差，难以加工成环境友好的水剂；农药不能有效进入向日葵根部发挥其药效，对向日葵列当的防治效果较为有限。传统剂型中含有大量的甲苯、二甲苯等有机溶剂，易造成土壤结块；施用 72% 2,4-D 丁酯乳油、38%莠去津悬浮剂易使向日葵产生药害等。为此，本文选用八氢视黄酸-羧甲基壳聚糖聚合物作为除草剂氟乐灵的载体，制备水溶性 Tf-OR-CC 制剂，以期借助膜下滴灌施药的方式，将 Tf-OR-CC 与灌溉水混匀、精准滴灌至向日葵根部，为滴灌施药防治向日葵列当提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱（紫外检测器）、PSX-208H 恒温恒湿培养箱、DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器。

97%氟乐灵原药（Tf），深圳诺普信农化股份有限公司；48%氟乐灵乳油，河北华灵农药有限公司；98%独脚金内酯类似物 GR24，上海翊圣生物科技有限公司；八氢视黄酸-羧甲基壳聚糖（OR-CC）聚合物由本实验室自制。

供试材料向日葵列当种子采自福海县喀拉玛盖镇食用向日葵种植户的田块中，供试向日葵品种为‘KD2511’。

1.2 纳米氟乐灵的制备

采用简单透析法制备八氢视黄酸-羧甲基壳聚糖聚合物：用纯水溶解聚合物粉末，超声 2 min，将氟乐灵原药用二甲基亚砜溶解，缓慢滴加入 OR-CC 溶液中，室温下搅拌 12 h。反应液转入透析袋用超纯水透析 2 d（每 8 h 更换 1 次透析液），10 000×g 离心 30 min，−80℃低温冰箱过夜，冷冻干燥即制得粉末状水溶性的 Tf-OR-CC 制剂（载药率为 49.1%）。

1.3 向日葵列当发芽率的测定

用 1% NaClO 溶液对向日葵列当种子浸泡 10 min 消毒，再用 75%乙醇溶液消毒 30 s，无菌水冲洗多次，置于超净工作台内的滤纸上晾干。在垫有无菌滤纸的培养皿（d=9 cm）内加入 6 mL 无菌水，皿内平整铺满玻璃纤维滤纸（d=5 mm），每一滤纸上撒播约 30 粒向日葵列当种子，将培养皿置于 25℃恒温培养箱内预培养 10 d。

经预培养后，在培养皿内每张玻璃纤维滤纸上加入 20 μL 1 μg/mL GR24 刺激其种子发芽，再分别加入 20 μL 5 μg/mL 氟乐灵、Tf-OR-CC 作为药物处理，有效成分含量保持一致，无菌水作为对照，每个处理 3 个重复，分别在第 3、7、10、14 天统计向日葵列当的发芽率。

1.4 田间试验设计

试验地位于福海县喀拉玛盖镇（46°40′38″N、87°46′1″E），在 2016 年 4 月 29 日进行播种，行距1 m、株距 60 cm、地膜宽度 40 cm，膜上点播，膜内铺设滴灌带，田间各时期水肥量均保持一致。

试验设 3 个处理：于 5 月 20 日每 667 m^2 先滴 800 kg 清水，再进行 48%氟乐灵乳油[有效成分含量（下同）75 g/667 m^2]和水溶性 Tf-OR-CC（75 g/667 m^2）滴灌施药处理，以清水作为对照。每处理 3 个重复，每个重复小区面积 222.3 m^2，共 9 个小区。

1.5 氟乐灵在土壤中消解半衰期的测定

在滴灌施药后 0、1、3、7、14、21、28、35、42、60 d在小区内随机选择区域采集土样，每个时间点 3 个重复，采样深度 0～10 cm，剔除碎石等杂质混匀，四分法留样 200 g，−20℃保存。称取土样 20 g 于 250 mL 三角瓶中，加入 100 mL 正己烷振荡提取 1 h，抽滤，滤液转入含 NaCl 的具塞量筒中振荡盐析，用电动移液枪吸取 50 mL 上清液于 250 mL 茄形瓶中，浓缩至近干，2 mL 甲醇溶解残余物备用。用 9 mL 甲醇-水（10∶90）活化 SPE 小柱，将样品溶液转入 SPE 小柱中，5 mL 甲醇淋洗，收集洗脱液，N_2 吹干，2 mL 甲醇定容，待 HPLC 检测。C_{18}（250 mm×4.60 mm，5 μm）色谱柱，流动相为甲醇-水（70∶30），流速 0.8 mL/min，柱温 35℃，λ=274 nm，进样量 10 μL。

消解动力学方程为：$C_t=C_0e^{-kt}$

其中：C_t 为 t 时间氟乐灵的残留量（ng/g）；C_0 为施药后氟乐灵的原始沉积量（ng/g）；k 为降解系

数(d^{-1})；t 为施药后时间。

拟合回归方程，根据 k 值计算氟乐灵在土壤中的消解半衰期 $T_{1/2}$：$T_{1/2}=\ln 2/k$

1.6　向日葵列当田间防效调查方法

施药后 30、45 d 调查各小区向日葵列当的寄生情况，采用对角线五点取样法，每点选取 5 行向日葵、每行 20 株，按照下列公式计算向日葵列当寄生率、寄生强度和防治效果：

向日葵列当寄生率＝被寄生向日葵株数/向日葵总株数×100%；

寄生强度＝向日葵列当株数/被寄生向日葵总株数；

防治效果＝(对照寄生率－处理寄生率)/对照寄生率×100%。

数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。

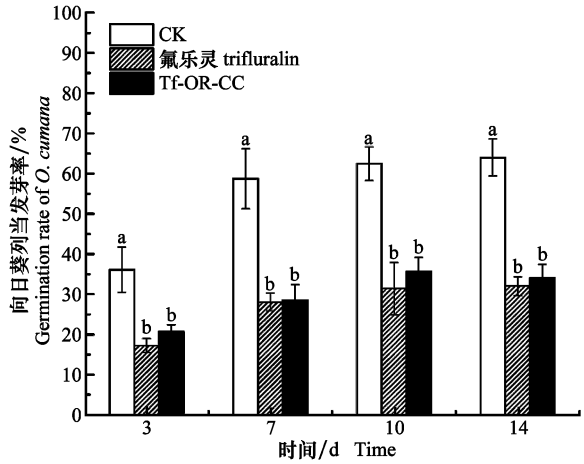
2　结果与分析

2.1　纳米氟乐灵对向日葵列当种子发芽率的影响

经过 10 d 的预培养，观察向日葵列当种子在 1 μg/mL GR24 的刺激下，第 3、7、10、14 天的发芽率(图 1)。结果表明：经 GR24 处理后，向日葵列当的种子均可以发芽。用 5 μg/mL 氟乐灵和 Tf-OR-CC 处理列当种子 3 d 后，两者都表现出良好的抑制种子发芽活性。7 d 后，两组药剂处理的发芽率保持在较低水平，发芽率分别为 28.1%和 28.5%，与对照相比差异显著。14 d 后的结果与 10 d 类似，发芽情况逐渐趋于稳定。说明氟乐灵和 Tf-OR-CC 对向日葵列当种子的萌发具有一定的抑制作用，Tf-OR-CC 制剂可以随滴灌水施用于向日葵田。

2.2　氟乐灵在土壤中的消解半衰期

为了明确滴灌施用 48%氟乐灵乳油、Tf-OR-CC 制剂后有效成分氟乐灵在土壤里的残留消解动态，对不同时间土壤中氟乐灵的残留量进行测定(表 1)。结果表明：滴灌施用两种制剂后，氟乐灵在土壤中的消解速率较慢，拟合回归方程得到的消解曲线均呈现负指数函数变化趋势，相关系数＞0.98，符合一级反应动力学。水溶性 Tf-OR-CC 制剂消解半衰期为 33.64 d，大于 48%氟乐灵乳油的 27.08 d，说明环境友好型水溶性 Tf-OR-CC 制剂具有一定的缓释作用，有效成分氟乐灵在载体聚合物 OR-CC 的包被下，逐步释放出来，有效延缓了氟乐灵在土壤中的降解速率。



图中数据为平均值±标准偏差，同组数据上方不同字母表示经邓肯氏多重比较后有显著差异($P<0.05$)

Data in the histogram are presented as mean±SD. Means with different letters within a group are significantly different (Duncan's multiple range tests, $P<0.05$)

图 1　氟乐灵和纳米氟乐灵对向日葵列当种子发芽率的影响

Fig. 1　Effects of trifluralin and Tf-OR-CC nanoparticles on germination rate of *Orobanche cumana* seeds

表 1　氟乐灵在土壤中的消解半衰期

Table 1　Degradation half-time of trifluralin in soil

采样间隔期/d Sampling interval	48%氟乐灵 EC trifluralin 48% EC		Tf-OR-CC 制剂 Tf-OR-CC nanoparticles	
	残留量/mg·kg^{-1} Amount of residue	消解率/% Degradation rate	残留量/mg·kg^{-1} Amount of residue	消解率/% Degradation rate
0	1.813	—	1.486	—
1	1.730	4.6	1.434	3.5
3	1.496	17.5	1.209	18.6
7	1.342	26.0	1.141	23.2
14	1.193	34.2	0.992	33.2
21	0.932	48.6	0.818	45.0
28	0.874	51.8	0.821	44.8
35	0.622	65.7	0.753	49.3
42	0.537	70.4	0.513	65.4
60	0.397	78.1	0.412	72.3
消解方程(C_t＝) Degradation equation	$1.682\,0e^{-0.025\,6t}$		$1.375\,0e^{-0.020\,6t}$	
相关系数(r) Correlation coefficient	0.991 3		0.981 4	
半衰期/d Half-time	27.080 0		33.640 0	

2.3 纳米氟乐灵对向日葵列当的田间防效

采用五点取样法调查滴灌施药后30、45 d各小区向日葵列当的寄生情况和田间防效(表2)。结果表明:施药30 d后,48%氟乐灵乳油和Tf-OR-CC制剂两组处理的向日葵列当寄生率分别为23.2%和20.8%,与对照组相比差异不显著。施药45 d后,两组处理的向日葵列当寄生率分别为40.0%和32.1%,寄生强度分别为5.4和5.3,与对照组相比差异显著。田间试验结果表明Tf-OR-CC制剂对向日葵列当的田间防效为36.3%,高于48%氟乐灵乳油的田间防效(20.6%)。

表2 48%氟乐灵乳油和纳米氟乐灵对向日葵列当的田间防效1)

Table 2 Field efficacy of trifluralin 48% EC and Tf-OR-CC nanoparticles against *Orobanche cumana*

药剂 Herbicide	施药后30 d 30 days after application				施药后45 d 45 days after application			
	有效成分含量/g·(667 m²)⁻¹ Active ingredient	向日葵列当寄生率/% Parasitism rate	寄生强度 Parasitic intensity	防治效果/% Control efficacy	有效成分含量/g·(667 m²)⁻¹ Active ingredient	向日葵列当寄生率/% Parasitism rate	寄生强度 Parasitic intensity	防治效果/% Control efficacy
空白对照 Control	—	(31.0±7.7)a	(6.8±0.6)a	—	—	(50.4±8.6)a	(7.7±0.8)a	—
48%氟乐灵 EC trifluralin 48% EC	75	(23.2±6.5)a	(4.2±1.6)b	25.1	75	(40.0±5.9)ab	(5.4±0.7)b	20.6
Tf-OR-CC制剂 Tf-OR-CC nanoparticles	75	(20.8±5.2)a	(3.8±0.8)b	32.9	75	(32.1±5.6)b	(5.3±0.7)b	36.3

1) 表中数据为平均值±标准偏差(mean±SD),同列数据后不同字母表示经邓肯氏多重比较后有显著性差异($P<0.05$)。
Data in the table are presented as mean±SD. Means with different letters within a column are significantly different (Duncan's multiple range tests, $P<0.05$).

3 结论与讨论

氟乐灵主要通过杂草的胚芽鞘与胚轴吸收,对已出土杂草无效,适用于棉花 *Gossypium* spp.、大豆 *Glycine max*、油菜 *Brassica campestris*、小麦 *Triticum aestivum*、向日葵等经济作物田防除单子叶杂草和部分一年生小粒种子阔叶杂草,但其易挥发、易光解、水溶性极小[9-10],施用后需要随即混土以延长药效期。目前商品化的仅有24%、48%氟乐灵乳油,5%、50%氟乐灵颗粒剂等两种剂型,尚不能有效解决氟乐灵利用率低的问题。为了改善氟乐灵制剂的水溶性、延缓氟乐灵的降解速率,本实验室前期制备了一种水溶性的Tf-OR-CC制剂,在PBS缓冲溶液(pH 7.0)中表现出良好的缓释性能,为本文后续开展对向日葵列当的室内毒力测定和田间药效试验奠定了研究基础。

寄主植物的根部分泌物是刺激向日葵列当发芽的重要物质[11-15],为了缩短试验周期,本文选用独脚金内酯类似物GR24诱导刺激向日葵列当种子的萌发。在室内毒力测定中,氟乐灵和Tf-OR-CC制剂均可以抑制向日葵列当种子的萌发,Tf-OR-CC没有表现出明显优势。董淑琦研究发现用1 mg/L独脚金醇处理向日葵列当种子,处理12 d后种子会进入二次休眠,发芽率普遍降低[8]。这可能是导致氟乐灵和Tf-OR-CC两组处理差异不显著的原因,建议今后改用盆栽向日葵苗对比氟乐灵和Tf-OR-CC对列当种子发芽率的抑制活性。

向日葵田喷施氟乐灵一般在施药混土后立即进行播种,已有研究表明向日葵列当出土时间距离向日葵播种的时间恒定在44~50 d[16],为了缩短施药与列当出土之间的时间间隔,本文改用滴灌施药的方式,将Tf-OR-CC制剂施用的时间推迟20 d。在田间药效试验中,虽然Tf-OR-CC制剂能够延缓氟乐灵在土壤中的消解半衰期,同时对向日葵列当的田间防效比48%氟乐灵乳油高15.7百分点,但仍有一部分氟乐灵在向日葵列当出土前就消解了,与期望的理想防治效果仍有较大差距。施用Tf-OR-CC制剂的最佳施药量、施药时间、施药次数还需进一步优化,对向日葵产量和环境安全的影响仍需更系统深入的研究。

参考文献

[1] 王汉中,殷艳.我国油料产业形势分析与发展对策建议[J].中国油料作物学报,2014,36(3):414-421.

[2] 白全江,云晓鹏,高占明,等.内蒙古向日葵列当发生危害及其防治技术措施[J].内蒙古农业科技,2013(1):75-76.

[3] 黄长权.向日葵列当寄生机理的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2012.

[4] 郎明,马永清,董淑琦,等.苗期棉花对向日葵列当种子萌发诱导作用初探[J].生态环境学报,2011,20(1):79-83.

[5] 郝智强.鱼腥草浸提液刺激列当种子萌发的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2013.

(下转248页)

代森联水分散粒剂对蚕豆赤斑病病菌的抑制效果最好，3 次药后 21 d 的平均防效为 86.85%，该杀菌剂对蚕豆植株的正常生长没有影响，并能有效增加蚕豆产量及种子百粒重。因此在临夏地区蚕豆赤斑病的发生发展时期，建议轮换使用以上 3 种杀菌剂喷雾，每隔 7 d 喷药 1 次，共喷 3～5 次，可有效地减轻赤斑病对蚕豆的危害，减少蚕豆赤斑病导致的产量损失及品质下降，从而提高经济效益。

参考文献

[1] 叶茵. 中国蚕豆学[M]. 北京：中国农业出版社，2003：466－467.

[2] 王淑英，南志标，李海林，等. 临夏州蚕豆茎叶病害调查及防治措施初探[J]. 甘肃农业科技，1994，(1)：33－34.

[3] 邵扬，郭延平，郭青范，等. 临夏春蚕豆产业现状及发展建议[J]. 保鲜与加工，2018，18(5)：174－178.

[4] 陈新，袁星星，崔晓艳，等. 不同药剂对蚕豆赤斑病综合防控效果分析及综合防控体系研究[J]. 金陵科技学院学报，2015，31(1)：73－77.

[5] 顾春燕，葛宏，王学军，等. 防治蚕豆赤斑病的药剂筛选研究[J]. 现代农药，2013，12(3)：46－48.

[6] 顾和平，陈新，陈华涛，等. 不同杀菌剂对蚕豆赤斑病防治效果试验[J]. 南方农业学报，2012，43(3)：329－331.

[7] 顾春燕，葛宏，陈满峰，等. 80%代森锰锌可湿性粉剂防治蚕豆赤斑病示范试验研究[J]. 现代农业科技，2015(12)：123－132.

[8] 孙广宇，宗兆锋. 植物病害学实验技术[M]. 北京：中国农业出版社，2002：147－148.

（责任编辑：杨明丽）

（上接 240 页）

[6] 张义，牛庆杰，孙敏，等. 向日葵抗列当遗传研究[J]. 中国油料作物学报，2006，28(2)：125－128.

[7] 全国农业技术推广服务中心. 潜在的植物检疫性有害生物图鉴[M]. 北京：中国农业出版社，2005.

[8] 董淑琦. 不同基因型冬小麦刺激根寄生杂草列当种子萌发的研究[D]. 杨凌：西北农林科技大学，2013.

[9] 钱坤，彭鑫亚，薛霏，等. 氟乐灵微球的制备及其控释效果研究[J]. 农药学学报，2017，19(6)：776－780.

[10] 刘亚静，曹立冬，张嘉坤，等. 氟乐灵微囊的制备、表征及其光稳定性研究[J]. 农药学学报，2015，17(3)：341－347.

[11] PÉREZ L A, GALINDO J C G, MACÍAS F A, et al. Sunflower sesquiterpene lactone models induce *Orobanche cumana* seed germination [J]. Phytochemistry, 2000, 53: 45－50.

[12] GALINDO J C G, PÉREZ L A, JORRIN J, et al. SAR studies of sesquiterpene lactones as *Orobanche cumana* seed germination stimulants [J]. Journal of Agricultural Food and Chemistry, 2002, 50: 1911－1917.

[13] MACÍAS F A, GARCIA-DIAZ M D, PÉREZ L A, et al. New chemical clues for broomrape-sunflower host-parasite interactions: synthesis of guaianestrigo-lactones [J]. Journal of Agricultural Food and Chemistry, 2009, 57: 5853－5864.

[14] RAUPP F M, SPRING O. New sesquiterpene lactones from sunflower root exudate as germination stimulants for *Orobanche cumana* [J]. Journal of Agricultural Food and Chemistry, 2013, 61: 10481－10487.

[15] SLAVOV S, VAN ONCKLEN H, BATCHVAROVA R, et al. IAA production during germination of *Orobanche* [J]. Plant Physiology, 2004, 161: 847－853.

[16] 陈燕芳，赵君，金玉华，等. 不同播期对向日葵列当发生的影响[J]. 现代农业科技，2014(13)：136.

（责任编辑：杨明丽）

订阅信息

欢迎订阅《植物保护》杂志

《植物保护》2019 年定价 35 元/册，全年刊期：6 期，全年定价 210 元。

①各地邮局订阅：邮发代号 2－483；

②科学出版社期刊发行部：联系电话 010－64017032　64017539；

③网上购买：搜淘宝店、微店店铺名称：中科期刊（订阅及销售过刊）；

或扫描下方二维码：

淘宝购买　微店购买