

郭亚军, 沈殿晶, 赵明, 等. 中空介孔二氧化硅纳米粒子负载的鱼藤酮纳米颗粒在黄瓜植株中的吸收和传导特性 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(1): 85-93.
 GUO Yajun, SHEN Dianjing, ZHAO Ming, et al. Uptake and translocation properties of rotenone nanopesticide mediated by hollow mesoporous silica nanoparticles in cucumber plant[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(1): 85-93.

中空介孔二氧化硅纳米粒子负载的鱼藤酮纳米颗粒在黄瓜植株中的吸收和传导特性

郭亚军^{1†}, 沈殿晶^{2†}, 赵 明², 范添乐², 王智超², 陈小军²

(1 扬州市江都区农业技术综合服务中心, 江苏 扬州 225200; 2 扬州大学 园艺与植物保护学院/
 农业与农产品安全国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009)

摘要:【目的】以纳米载体作为农药载体, 提高农药利用率。【方法】采用自模板合成法, 在合成实心介孔二氧化硅纳米粒子 (Mesoporous silica nanoparticles, MSNs) 的基础上, 以水为刻蚀剂制备中空介孔二氧化硅纳米粒子 (Hollow mesoporous silica nanoparticles, HMSNs)。通过溶剂挥发法将植物源农药鱼藤酮 (Rot) 负载到 HMSNs 的孔道中, 制备得到 Rot@HMSNs。测定 Rot@HMSNs 的缓释性能和杀虫活性。HPLC 检测 Rot@HMSNs 中鱼藤酮在黄瓜植株中的系统分布。【结果】所制备的 HMSNs 粒径约 250 nm, 比表面积达 999.4 m²/g。Rot@HMSNs 粒径均一, 载药率达 46.7%, 具有良好的释放特性, 释放模型符合 Ritger-Peppas 释放模型。HMSNs 显著提高了鱼藤酮在黄瓜植株中的吸收和传导能力。【结论】通过纳米载体 HMSNs 可以提高鱼藤酮的利用率, 此研究对于减少农药使用量、降低环境污染具有重要意义。

关键词: 中空介孔二氧化硅; 鱼藤酮; 纳米颗粒; 缓释性能; 吸收传导能力

中图分类号: S482

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2022)01-0085-09

Uptake and translocation properties of rotenone nanopesticide mediated by hollow mesoporous silica nanoparticles in cucumber plant

GUO Yajun^{1†}, SHEN Dianjing^{2†}, ZHAO Ming², FAN Tianle², WANG Zhichao², CHEN Xiaojun²

(1 Agricultural Technology Comprehensive Service Center of Jiangdu District Yangzhou City, Yangzhou 225200, China;
 2 School of Horticulture and Plant Protection/Joint International Research Laboratory of Agriculture & Agri-Product Safety, Yangzhou University, Yangzhou, 225009, China)

Abstract: 【Objective】Nanocarrier was used as pesticide carrier to improve the utilization ratio of pesticide. 【Method】Hollow mesoporous silica nanoparticles (HMSNs) were synthesized by self-template method using water as etchant on the basis of solid mesoporous silica nanoparticles (MSNs). Botanical pesticide rotenone was loaded into HMSNs (Rot@HMSNs) by solvent evaporation method. The sustained-release property and insecticidal activity of Rot@HMSNs were determined. Distribution of rotenone in Rot@HMSNs of cucumber was obtained by HPLC. 【Result】The particle size of HMSNs was about 250 nm and the specific surface area was 999.4 m²/g. The prepared Rot@HMSNs had uniform particle size and a considerable loading rate of

收稿日期: 2021-04-01 网络首发时间: 2021-12-14 09:12:35

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20211213.1522.002.html>

作者简介: 郭亚军, 高级农艺师, 硕士, 主要从事农药高效施用新技术研究, E-mail: 381896070@qq.com; 沈殿晶, 硕士, 主要从事农药残留与环境毒理等研究, E-mail: 603495520@qq.com, †表示同等贡献; 通信作者: 陈小军, 副教授, 博士, 主要从事农药高效施用新技术和环境毒理学研究, E-mail: cxj@yzu.edu.cn

基金项目: 江苏省重点研发计划 (BE2019340); 扬州市市校合作项目 (YZ 2020178)

rotenone (46.7%). The Rot@HMSNs had good releasing performance and the release model was in accordance with the Ritger-Peppas model. HMSNs significantly improved the uptake and translocation abilities of rotenone in cucumber plants. 【Conclusion】 The utilization rate of rotenone can be improved by nanocarrier HMSNs. The study is of great significance for reducing pesticide use and environmental pollution.

Key words: Hollow mesoporous silica; Rotenone; Nanopesticide; Sustained release property; Uptake and translocation abilities

中空微球是一种具有特殊结构的纳米材料,与相似大小的材料相比,中空微球具有相对密度低、原材料使用少等优点。但是,当中空微球表面没有孔道时,内腔药物很难释放出来,因此微球孔道的连通性至关重要^[1-2]。中空介孔二氧化硅纳米粒子(Hollow mesoporous silica nanoparticles, HMSNs)具有介孔和中空内腔结构的双重特点,并且其比表面积可观以及具有较好的生物相容性和稳定性,是负载农药的良好载体^[3-6]。近年来,研究者也证明了HMSNs负载农药能够提高农药利用效率。Gao等^[7]以HMSNs为载体,制备出一种对pH敏感的阿维菌素纳米农药,结果显示HMSNs能够大大提高阿维菌素的持效期。Tan等^[8]通过硬模板法制备出粒径为80~100 nm的HMSNs,负载烯效唑的HMSNs具有良好的控释特性,对水稻生长的阻滞作用有所改善。HMSNs的形成过程中,合成的模板起到了至关重要的作用,按照模板的合成机理主要可以分为硬模板法^[9-12]、软模板法^[13-16]和自模板法^[17-19]。自模板法的优点在于可以以自身为模板,采用刻蚀剂进行刻蚀,从而转换为HMSNs,便捷高效,不添加其他化学药剂。

鱼藤酮(Rotenone)是一种植物源杀虫剂,对蓟马 *Thrips*、蚜虫 *Aphids* 和菜青虫 *Pieris rapae* 等蔬菜害虫具有良好的杀虫活性^[20-21]。但是,鱼藤酮在环境中不稳定,容易发生光解和水解,持效期短。此外,施药后,只有少量鱼藤酮进入植物体内,利用率和防治效果大大降低。据统计,截至2021年2月,鱼藤酮在中国取得登记的制剂产品有20个,原药产品有2个^[22],未有相关鱼藤酮纳米剂型登记。斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 为鳞翅目夜蛾科杂食性害虫,寄主植物广泛,多达300多种^[23],主要危害十字花科蔬菜、烟草、花生、大豆、甘薯等大田农作物。研究人员通过试验发现,7.5%(w)鱼藤酮乳油对斜纹夜蛾3龄幼虫具有较高防效^[24],但是其在环境中的持效期较短。为了延长鱼藤酮的持效期,提高其有效利用率,本研究采用自模板法,在合成实心介孔二氧化硅的基础上,以水为刻蚀剂,通过调整刻蚀的时间与温度,制备出粒径250 nm、分散程度良

好、内腔体积较大以及介孔结构明显的HMSNs,再采用溶剂挥发法制备负载鱼藤酮的HMSNs纳米颗粒(Rot@HMSNs),旨在提高鱼藤酮的稳定性、在植株中的吸收和传导能力以及杀虫活性。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

鱼藤酮标准品(w为98%)购自美国Sigma-Aldrich公司;鱼藤酮原药(w为95.0%)购自丰顺县汤西嘉兴福利化工厂;十六烷基三甲基氯化铵(CTAB, w为99%)、氨水(w为25%)、无水乙醇和正硅酸四乙酯(TEOS)购自国药集团化学试剂有限公司;异硫氰酸荧光素(FITC)购自北京索莱宝科技有限公司;3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES, w为98%)购自阿拉丁(上海)有限公司;鱼藤酮微乳剂(w为6%)购自北京三浦百草绿色植物制剂有限公司。

S-4800 II 场发射扫描电镜,日本日立公司;Tecnai 12 透射电镜,荷兰 Philips 公司;激光光散射仪,德国 ALV 公司;Autosorb IQ3 比表面分析及孔径综合分析仪,美国 Quantachrome Instruments 公司;Tensor 27 傅里叶红外光谱仪,布鲁克光谱仪器公司;L-2000 型高效液相色谱,日本 Hitachi 公司;TEMBS210S 型电子天平,德国 Sartorius 公司;H/T-16MM 台式高速离心机,湖南赫西仪器装备有限公司;Milli-Q 超纯水器,美国 Millipore 公司;SB25-12DTN 型超声波清洗机,宁波新芝生物科技有限公司;LSM 880NLO 双光子激光共聚焦显微镜,德国卡尔蔡司公司。

1.2 供试生物

斜纹夜蛾购自河南省济源白云实业有限公司。在室内培养3代后用于试验,具体养殖条件为:使用纱网制作产卵笼,每个产卵笼放入20头虫蛹,将产卵笼置于光照培养箱中,设置光照12 h,温度保持在25℃,保持湿度76%左右,成虫孵出后,用棉球蘸取15%(w)的蜂蜜水为成虫提供营养,将医用纱布置于底部,每天收集纱布中的卵,剪下有卵部分,置于养虫盒中,并加入饲料,以待幼虫长至3龄期。

黄瓜的种植,先采用w为5%的H₂O₂将种子

表面消毒 30 min, 然后采用去离子水彻底冲洗干净; 无菌种子在经去离子水湿润的滤纸上培养 7 d 后, 将幼苗移栽到有营养土壤和蛭石的 5 L 塑料盆中。当植株发育出第 5 片叶子时进行试验, 采用涂抹法进行施药处理。

1.3 试验方法

1.3.1 HMSNs 和载鱼藤酮 HMSNs(Rot@HMSNs) 的合成 采用自模板法^[25], 先合成实心介孔二氧化硅 (Mesoporous silica nanoparticles, MSNs), 再以水为刻蚀剂, 通过控制刻蚀的时间和温度, 合成 HMSNs。将 0.16 g CTAB、26 mL 的无水乙醇和 55 mL 的去离子水加入到圆底烧瓶中, 混合搅拌使 CTAB 充分溶解, 5 min 后加入 1 mL 氨水, 然后以 1 mL/min 的速率滴加 1 mL 的 TEOS 到上述混合溶液中, 使其反应完全, 保持室温, 待混合液混合反应 3 h 后, 离心收集沉淀, 将沉淀分别用乙醇和去离子水洗涤 3 次, 即得到实心二氧化硅纳米粒子, 将合成得到的实心介孔二氧化硅纳米粒子加入到 100 mL 的去离子水中, 在 60 °C 条件下持续搅拌 24 h, 随后离心收集沉淀, 用去离子水洗涤 3 次, 即得到 HMSNs。

分别称取 200 mg 鱼藤酮和 100 mg HMSNs 进行载药, 具体步骤参考文献 [24] 的载药方法。

1.3.2 HMSNs 和 Rot@HMSNs 的表征 采用多种手段对 HMSNs 和 Rot@HMSN 进行表征, 具体参考文献 [26] 的方法, 包括采用扫描电镜和透射电镜进行形貌分析; 采用激光散射仪进行粒径分析; 采用比表面积测定仪测定物理吸附特性; 采用傅里叶红外光谱对其是否制备成功进行分析。

1.3.3 Rot@HMSNs 载药率的测定 载药率的测定参考文献 [26] 的方法, 称取 5 mg Rot@HMSNs, 加入 25 mL 乙腈, 超声分散 2 h, 使所载的鱼藤酮完全从 HMSNs 中释放出来, 试验重复 3 次。鱼藤酮的含量采用高效液相色谱仪进行检测, 具体检测条件参考文献 [27-28]。

1.3.4 Rot@HMSNs 的缓释性能测定 取 50 g 黄瓜植株提取液, 加入 100 mL 含 30%(φ) 乙腈的去离子水, 制备成稀释的黄瓜汁液, 以其作为释放溶液模拟其释放环境, 探究 Rot@HMSNs 在植物体内的释放特性, 方法参考文献 [26]。为了进一步分析其释放行为和合理解释农药的释放规律, 采用 4 种释放模型进行拟合分析, 分别是零阶释放模型^[29]、一阶释放模型散^[30]、Higuchi 释放模型^[29] 和 Ritger-Peppas 释放模型^[31]。

1.3.5 Rot@HMSNs 的杀虫活性 以斜纹夜蛾 3 龄幼虫为供试材料, 将 Rot@HMSNs 分散于含 1.0 g/L

吐温-80 的去离子水溶液中, 分别配制成 500、250、125、62.5 和 31.25 mg/L 的梯度溶液。试验选取直径为 6 cm 的新鲜甘蓝叶片, 将甘蓝叶片分别浸润于 5 种溶液中 30 s, 拿出后待叶片晾干, 置于培养皿中。分别选取 15 头健康的斜纹夜蛾 3 龄幼虫放入培养皿中, 喂养 24、48、72 h 后观察幼虫的存活情况, 每个浓度设置 3 组重复, 并且设置 5 g/L 的鱼藤酮微乳剂为对照组。随后利用浓度和死亡率计算出对应的毒力回归曲线, 计算致死中浓度 LC_{50} 。

1.3.6 FITC 标记的 HMSNs(FITC-HMSNs) 的合成 为了示踪 HMSNs 在黄瓜植物中的系统分布, 采用 APTES 作为交联剂将荧光素 FITC 接枝到 HMSNs 上, 得到 FITC-HMSNs 的可视化研究。FITC-HMSNs 的合成参照 Hussain 等^[32] 的方法。将 20 mg HMSNs、20 mL 二甲基甲酰胺和 10 μ L APTES 混合后, 剧烈搅拌 1 d, 用乙醇洗涤 3 次后去除多余 ATPES。随后将功能化 HMSNs 与 10 mL 乙醇和 1 mg FITC 混合, 继续剧烈搅拌 1 d, 最后分别用去离子水和乙醇洗涤 3 次, 得到 FITC-HMSNs。

1.3.7 FITC-HMSNs 的施药、取样和可视化观察 取种植的黄瓜植株进行内吸传导性试验, 用毛笔将已配制好的 200 mg/L 的 FITC-HMSNs 悬浮液轻轻涂布在植株中部的成熟叶片上, 待叶片上药液变干后, 再重复涂布一定体积的药剂, 叶片上涂布的药液总量为 0.5 mL。施药 24 h 后, 分别采集处理叶片的叶柄、上部茎秆、下部茎秆和根, 并将各部位的切片置于共聚焦显微镜下观察, 可视化观察 HMSNs 在黄瓜植株中的系统分布情况。

1.3.8 黄瓜植株的前处理方法 分别称取 1 g 黄瓜叶片或根于匀浆杯中, 加入 5 mL 乙腈, 在匀浆器中高速匀浆 1 min, 随后加入 0.3 g 氯化钠和 1.2 g 无水硫酸镁, 旋涡振荡, 4 000 r/min 离心 5 min; 取上清液 2 mL 到盛有 150 mg 无水硫酸镁、50 mg PSA 和 25 mg C18 的离心管中, 4 000 r/min 离心 5 min; 取上清液 0.70 mL, 加入 0.30 mL 水后混匀, 0.22 μ m 有机相滤膜过滤处理, 高效液相色谱仪检测分析。

1.3.9 Rot@HMSNs 中鱼藤酮在黄瓜植株中的系统分布 施药方法同“1.3.7”。待涂布 0、1、3、5、7、10 和 14 d 后, 分别取涂布药液的成熟叶片、涂药叶片上部叶片、涂药部位下部叶片和根。同时分别设置 6 g/L 的鱼藤酮微乳剂、清水的对照处理组, 每处理重复 3 次。采集处理黄瓜植株的各部位, 经样品前处理后, 采用 HPLC 检测分析各处理植株各部位中的鱼藤酮含量。并采用转移因子 (TFs)^[33] 评价 Rot@HMSNs 在黄瓜植株中的转移能力, 转移因子

的计算公式分别为:

$$TF_1 = \rho_1 / \rho_4, \tag{1}$$

$$TF_2 = \rho_2 / \rho_4, \tag{2}$$

$$TF_3 = \rho_3 / \rho_4, \tag{3}$$

式中, TF_1 、 TF_2 和 TF_3 分别为上部叶、下部叶和根的转移因子; ρ_1 、 ρ_2 、 ρ_3 和 ρ_4 分别为上部叶、下部叶、根和处理叶的鱼藤酮质量浓度。

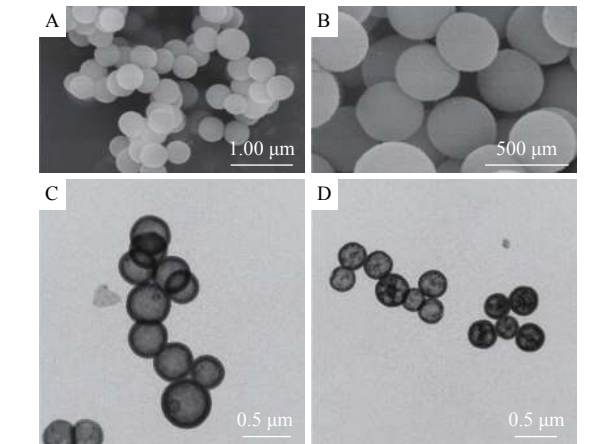
1.4 数据分析

使用 SPSS25.0 对所有数据进行统计学分析, 并通过单因素方差分析 (ANOVA) 对试验数据进行处理, 用 LSD 法比较处理组及对照组之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 HMSNs 和 Rot@HMSNs 的表征

扫描电镜的观察结果显示, 所制备的 HMSNs 呈球形、粒径大小均匀、表面结构粗糙, 具有致密的介孔结构 (图 1A、1B)。进一步的透射电镜观察结果显示, HMSNs 的粒径均一、介孔结构清晰以及内腔空间可观 (图 1C)。负载鱼藤酮之后, HMSNs 的内腔空间变小, 阴影部分面积加深, 说明鱼藤酮被成功负载 (图 1D)。



A、B 为 HMSNs 的扫描电镜图; C 为 HMSNs 的透射电镜图; D 为 Rot@HMSNs 的透射电镜图
A and B: Scanning electron micrographs of HMSNs; C: Transmission electron micrograph of HMSNs; D: Transmission electron micrograph of Rot@HMSNs

图 1 电镜图
Fig. 1 Electron micrograph

激光光散射仪分析结果表明 HMSNs 和 Rot@HMSNs 在水中具有良好的分散性, 并且载药后的 Rot@HMSNs 具有和 HMSNs 相似的粒径 (图 2A)。从图 2A 可知, HMSNs 的粒径分布较为集中, 粒径主要在 250 nm 左右。同样地, Rot@HMSNs 的粒径分布也较为集中, 也主要为 250 nm。此外,

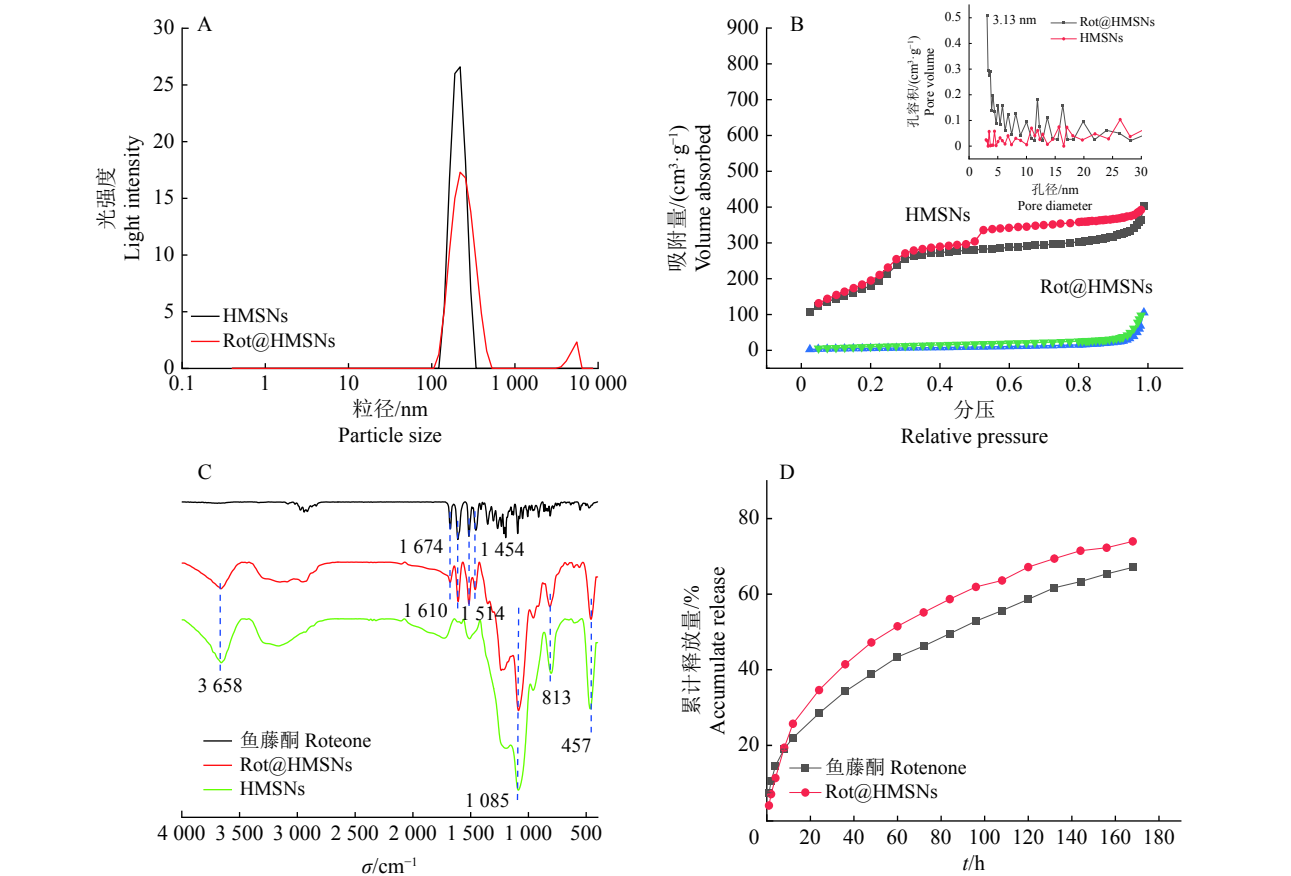
Rot@HMSNs 在 5 000 nm 左右存在 1 个弱峰, 这可能是由于部分的 HMSNs 在载鱼藤酮以后发生了团聚。HMSNs 和 Rot@HMSNs 的聚合物分散系数分别为 0.259 和 0.367。上述研究结果表明本研究采用的载药方法在达到可观的载药率的同时, 还能保持相似的粒径。

HMSNs 等温线为典型的 IV 型等温曲线, 分压在 0.3~1.0 时, 出现了 1 个长而宽的 H4 类滞后环 (图 2B), 表明其具有平行板结构的介孔。Rot@HMSNs 的等温线由于鱼藤酮分子的填充而改变, 其吸附量远远小于 HMSNs。研究表明 HMSNs 的比表面积为 999.4 m²/g, 孔容积为 0.62 cm³/g, 孔径为 3.3 nm, 而 Rot@HMSNs 的比表面积等各项指标都因鱼藤酮的负载而急剧下降, 比表面积为 21.8 m²/g, 孔容积为 0.16 cm³/g, 孔径为 3.1 nm, 因此也证明了鱼藤酮成功占据了 HMSNs 的介孔结构。

红外光谱测定结果显示 Rot@HMSNs 在相应的位置出现了鱼藤酮和 HMSNs 的特征峰, 在 457、813 cm⁻¹ 处出现了 Si—O 键对称伸缩峰; 在 1085 cm⁻¹ 处出现了 Si—O—Si 反对称伸缩振动峰, 3 658 cm⁻¹ 处的弱峰为结构水—OH 反对称伸缩振动峰; 另外在 1 454、1 514、1 610 和 1 674 cm⁻¹ 处出现了与鱼藤酮相同的特征吸收峰 (图 2C), 为苯环的振动峰^[34]。由此可以证明, 鱼藤酮成功负载到 HMSNs 孔道中, 且未发生氧化光解等变化。此外, 并未发现模板剂 CTAB 的特征峰, 说明模板剂已经完全去除。通过 HPLC 检测超声 2 h 后含有 Rot@HMSNs 乙醇溶液的鱼藤酮含量, 结果表明 HMSNs 的载药率为 46.7%。

2.2 Rot@HMSNs 的释放性能

释放时间在 0~10 h 时, 鱼藤酮的释放量略大于 Rot@HMSNs, 此时由于 HMSNs 孔道的束缚和大量鱼藤酮聚集于 HMSNs 内腔中, 限制了鱼藤酮的释放。当释放时间大于 10 h 后, HMSNs 表面和孔道中的鱼藤酮已经完全释放, 内腔的鱼藤酮释放不再受到限制, 释放量开始大于鱼藤酮原药, 在 168 h 后 Rot@HMSNs 的鱼藤酮释放量达到 74%, 鱼藤酮原药的释放量为 67%, 并且还有缓慢上升的趋势 (图 2D)。由表 1 可知, 在 4 种拟合模型中, Rot@HMSNs 的释放曲线在 Ritger-Peppas 拟合模型下具有最高的拟合度, 决定系数为 0.990 3, Rot@HMSNs 拟合方程的 n 值为 0.44, 介于 0.43~0.85, 符合不规则扩散行为, 说明其释放过程中 Rot@HMSNs 的释放行为存在 Fickian 扩散和骨架的溶蚀扩散, 这是因为 HMSNs 的合成方法是通过刻蚀法, 将实心 MSNs 转变为 HMSNs, 在释放过程中, 受到释放介质的侵蚀, 球体表面破裂, 鱼藤酮从 HMSNs 中释放出来。



A: HMSNs 和 Rot@HMSNs 的激光散射粒径分布图; B: HMSNs 和 Rot@HMSNs 的氮吸 附、脱附等温线和孔径分布图; C: 鱼藤酮、Rot@HMSNs 和 HMSNs 的傅里叶红外光谱图; D: Rot@HMSNs 的累计释放曲线

A: Particle size distribution of dynamic light scattering of HMSNs and Rot@HMSNs; B: N₂ adsorption-desorption isotherms of HMSNs and Rot@HMSNs; C: FTIR spectra of rotenone, Rot@HMSNs and HMSNs; D: Cumulative release curves of rotenone and Rot@HMSNs

图 2 HMSNs 和 Rot@HMSNs 的表征分析

Fig. 2 Characterization analysis of HMSNs and Rot@HMSNs

表 1 鱼藤酮和 Rot@HMSNs 的释放曲线拟合结果

处理	拟合方式	动力学方程 ¹⁾	决定系数
Treatment	Fitting method	Kinetic equation	Determination coefficient
鱼藤酮 Rotenone	零阶释放模型	$Q=17.12+0.34t$	0.970 1
	Zero-order release model		
	一阶释放模型	$Q=64.42(1-e^{-0.02t})$	0.936 7
Rot@HMSNs	First-order release model		
	Higuchi释放模型	$Q=5.39t^{1/2}$	0.988 4
	Higuchi release model		
	Ritger-Peppas释放模型	$Q=7.50t^{0.43}$	0.999 3
	Ritger-Peppas release model		
	零阶释放模型	$Q=18.68+0.40t$	0.885 7
	Zero-order release model		
	一阶释放模型	$Q=70.98(1-e^{-0.02t})$	0.975 8
	First-order release model		
	Higuchi释放模型	$Q=6.20t^{1/2}$	0.980 9
	Higuchi release model		
	Ritger-Peppas释放模型	$Q=8.36t^{0.44}$	0.990 3
	Ritger-Peppas release model		

1) Q 为累计释放量, t 为释放时间

1) Q is the cumulative release, and t is the release time

2.3 Rot@HMSNs 的杀虫活性

由表 2 可知, 空白 HMSNs 对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的 LC_{50} 远大于 1 000 mg/L; Rot@HMSNs 对斜纹夜蛾 3 龄幼虫处理 24、48 和 72 h 的 LC_{50} 分别为 133.8、104.5 和 84.0 mg/L, 并且其杀虫活性高于 5 g/L 的鱼藤酮微乳剂, 说明 Rot@HMSNs 具有更好的持效性和杀虫活性。取食 HMSNs 处理的甘蓝叶片以后, 斜纹夜蛾 3 龄幼虫出现了行动缓慢、体积缩小和不取食叶片等现象, 说明 HMSNs 作为鱼藤酮载体具有一定的增效作用。

2.4 HMSNs 在黄瓜植株中的吸收和传导特性

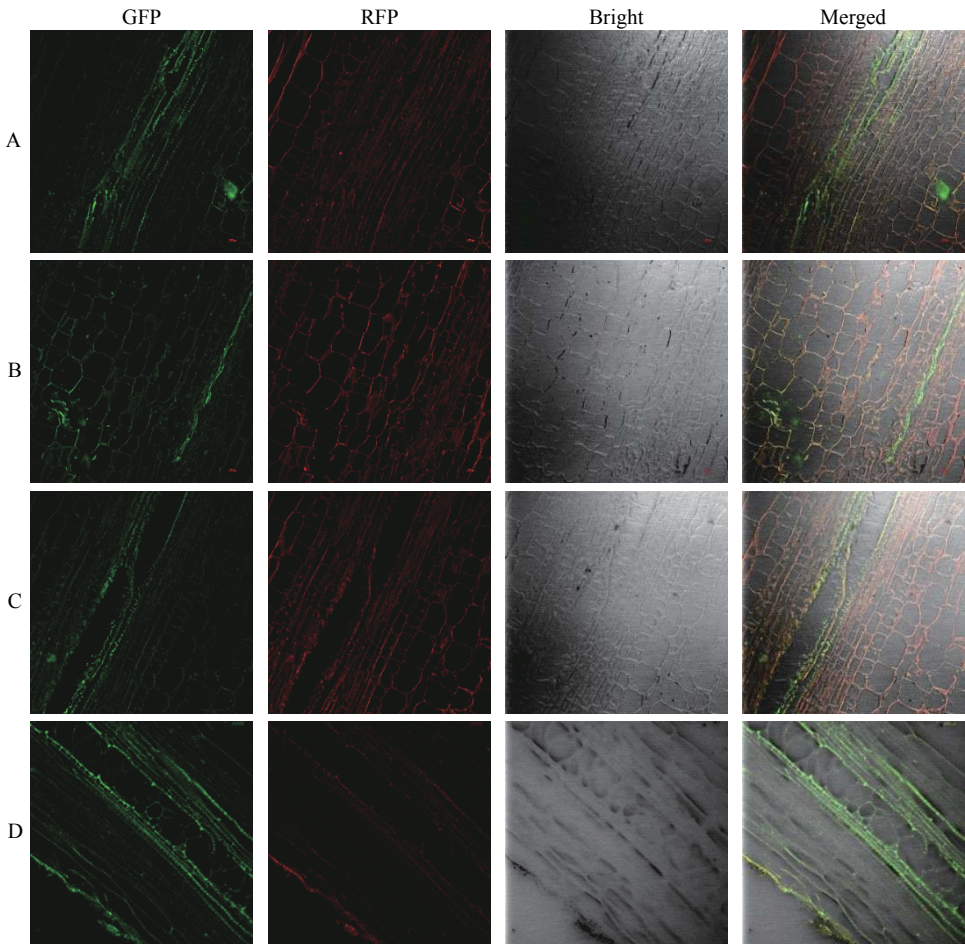
通过激光共聚焦显微镜观察到, 在经过 FITC-HMSNs 叶面处理 24 h 以后, 在黄瓜植株的处理叶叶柄、处理叶以上部位茎秆、处理叶以下部位茎秆和根部均能够发现较强的绿色荧光, 绿色荧光主要集中在植株的细胞壁和维管束, 只有少量出现在细胞中, 这是由于 FITC-HMSNs 粒径的限制, 无法通过细胞壁的孔进入细胞内部 (图 3)。为了去除黄瓜植株自发绿色荧光带来的干扰, 本研究采用双光子

表 2 HMSNs 和 Rot@HMSNs 对斜纹夜蛾的杀虫活性
Table 2 Insecticidal activity of HMSNs and Rot@HMSNs against *Spodoptera litura*

处理 Treatment	t/h	毒力回归方程 ¹⁾ Regression equation	决定系数 Determination coefficient	LC ₅₀ / (mg·L ⁻¹)
Rot@HMSNs	24	$y = -2.76 + 1.31x$	0.8418	133.8
	48	$y = -2.70 + 1.35x$	0.8983	104.5
	72	$y = -3.37 + 1.77x$	0.8986	84.0
鱼藤酮微乳剂 Rotenone microemulsion	24	$y = -2.97 + 1.32x$	0.9518	176.3
	48	$y = -3.03 + 1.45x$	0.9579	123.9
	72	$y = -5.33 + 2.73x$	0.9699	91.6
HMSNs	72			≥1000

1) x 为剂量的对数, y 为死亡率
1) x is the logarithm of dose, and y is the mortality rate

激发, 红色荧光显示的即为植物叶绿体, 而绿色荧光与红色荧光不重合部分即为被植物吸收的 FITC-HMSNs, 说明 HMSNs 都能被黄瓜叶片吸收, 从而传导到黄瓜植株各个部位, 具有负载输送农药的巨



A: 处理叶以上部位茎秆; B: 处理叶的叶柄; C: 处理叶以下部位茎秆; D: 根
A: Upper stem of treated leaf; B: Stem of treated leaf; C: Lower stem of treated leaf; D: Root

图 3 施用 FITC-HMSNs 24 h 后黄瓜植株各部位的激光共聚焦图

Fig. 3 Figures of various parts of cucumber plant 24 h after applying FITC-HMSNs using laser confocal microscope

大潜力。

2.5 Rot@HMSNs 在黄瓜植株中的吸收和传导特性

高效液相色谱仪检测分析结果表明, 在处理叶片中 Rot@HMSNs 处理组的鱼藤酮含量远大于鱼藤酮微乳剂处理组, 并且在 14 d 以后还能检测出大量的鱼藤酮, 而鱼藤酮微乳剂处理组 7 d 后已经检测不到鱼藤酮。上部叶片只有在 1、3 和 5 d 检测到鱼藤酮, 并且 Rot@HMSNs 处理组的鱼藤酮含量远低

于鱼藤酮微乳剂处理组的含量, 说明 Rot@HMSNs 中心鱼藤酮向上传导量较低 (图 4)。但是, Rot@HMSNs 处理组的黄瓜下部叶片和根部均检测出鱼藤酮的存在, 并且其含量远高于鱼藤酮微乳剂处理组的含量。研究结果表明 Rot@HMSNs 具有一定的向上和向下传导的能力, 但上部叶片的转移因子远小于下部叶片和根, 转移因子的值越大传导能力越强 (表 3), 因此 Rot@HMSNs 中心鱼藤酮在植株中向下传导的能力远大于向上传导的能力。

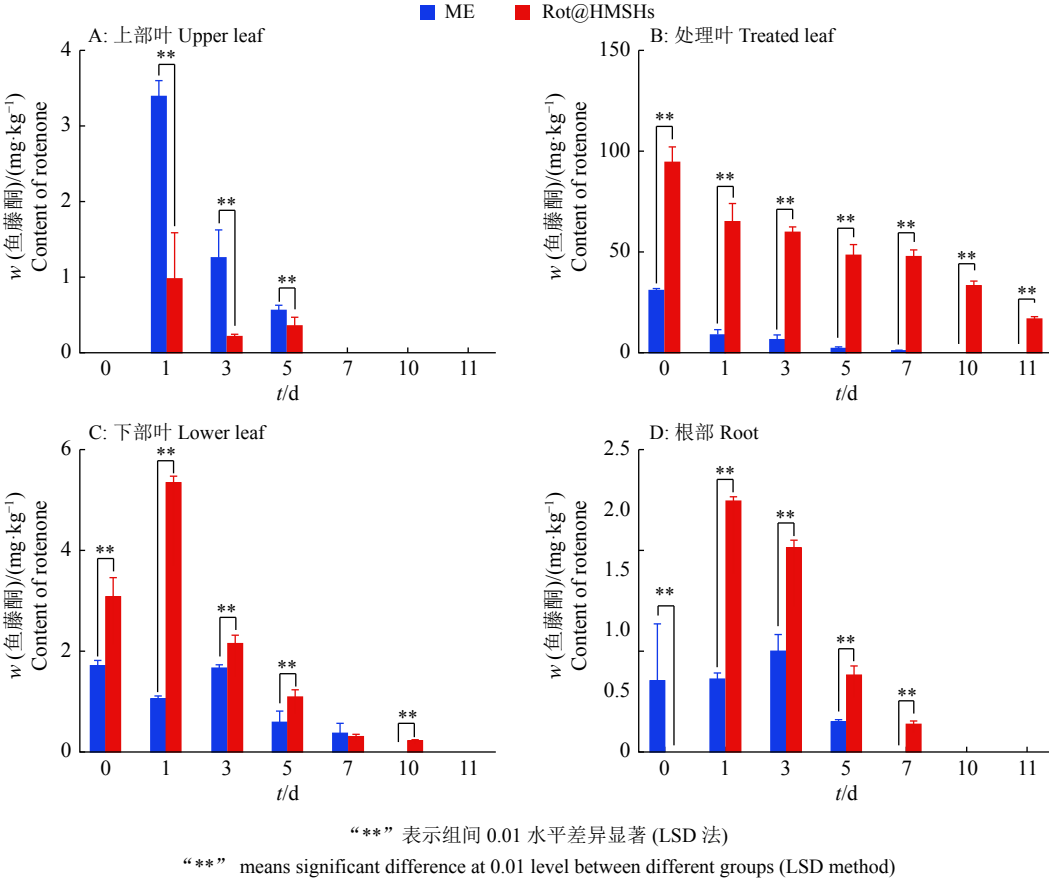


图 4 黄瓜植株各部位中鱼藤酮的含量

Fig. 4 Content of rotenone in various parts of cucumber plants

表 3 不同处理时间 Rot@HMSNs 在黄瓜植株不同部位中的转移因子

Table 3 Transfer factors of Rot@HMSNs in different parts of cucumber plant under different treatment time

t/d	上部叶 Upper leaf	下部叶 Lower leaf	根 Root
0	0	0.032 5	0
1	0.015 1	0.081 9	0.031 8
3	0.004 0	0.036 2	0.028 3
5	0.007 6	0.022 8	0.013 2
7	0	0.007 0	0.005 0
10	0	0.007 4	0
14	0	0	0
均值 Mean	0.003 8	0.026 8	0.011 2

由 Rot@HMSNs 和鱼藤酮微乳剂处理组的黄瓜植株中鱼藤酮的总含量分布图 (图 5) 可知, Rot@HMSNs 处理过后, 鱼藤酮在黄瓜中的总含量远大于鱼藤酮微乳剂处理组。虽然鱼藤酮微乳剂处理组的黄瓜植株能够使少量鱼藤酮被植物吸收, 但是大量的鱼藤酮在施加到处理叶片后, 直接裸露于环境中, 容易受到光照、空气和水等环境因素的影响, 导致鱼藤酮无法到达目标部位, 大大降低了利用率。然而 HMSNs 能够大量负载鱼藤酮于孔道和腔中, 避免鱼藤酮受外界环境影响而发生光降解、水解和氧化等反应, 有利于加强鱼藤酮的稳定性, 提高持效期, 从而提高鱼藤酮的有效利用率。对施药黄瓜植株的果实进行了鱼藤酮含量测定, 结果显

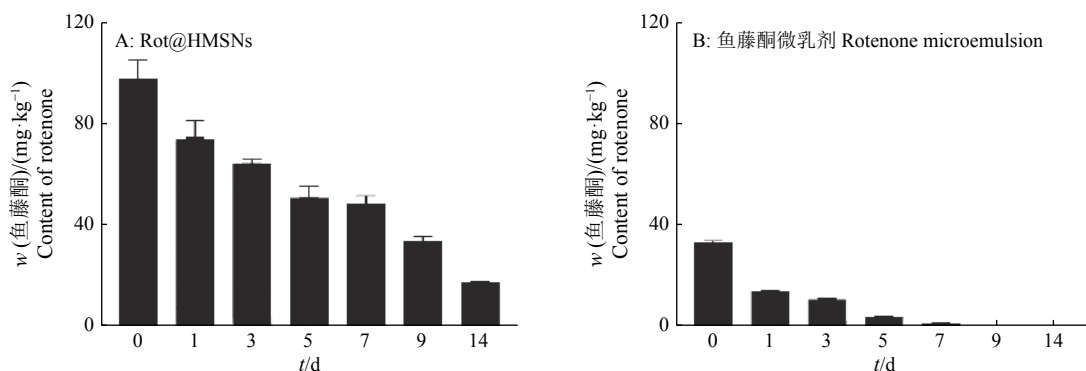


图 5 黄瓜植株中鱼藤酮的总含量

Fig. 5 Total content of rotenone in cucumber plants

示黄瓜果实中的鱼藤酮浓度低于检出限 0.004 mg/L (在本色谱条件下, 鱼藤酮在 0.01~25 mg/L 内峰面积与其质量浓度间线性关系良好), 即黄瓜果实中鱼藤酮的残留量小于 0.04 mg/kg, 我国规定的鱼藤酮在结球甘蓝中的最大残留限量为 0.5 mg/kg^[35], 此时收获的黄瓜食用安全。

3 结论

采用自模板合成法, 制备的 HMSNs 具有较小的粒径, 对鱼藤酮的载药率达 46.7%, 所制备的 Rot@HMSNs 的粒径均一, 具有较好的分散性和缓释释放特性, 增强了鱼藤酮对斜纹夜蛾的杀虫活性, 且纳米载体 HMSNs 有效促进了鱼藤酮在黄瓜植株中的吸收和传导。本研究对减少农药的使用量、降低环境污染、保障粮食、蔬菜食品及生态安全, 促进农药产业的可持续发展均具有重要意义。

参考文献:

- [1] CHEN B, QUAN G L, WANG Z H, et al. Hollow mesoporous silicas as a drug solution delivery system for insoluble drugs[J]. *Powder Technology*, 2013, 240: 48-53.
- [2] SHE X, CHEN L, VELLEMAN L, et al. Fabrication of high specificity hollow mesoporous silica nanoparticles assisted by Eudragit for targeted drug delivery[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2015, 445: 151-160.
- [3] 何顺, 高云昊, 万虎, 等. 基于介孔二氧化硅纳米粒子的农药可控释放研究进展[J]. *农药学报*, 2016, 18(4): 416-423.
- [4] DEODHAR G V, ADAMS M L, TREWYN B G. Controlled release and intracellular protein delivery from mesoporous silica nanoparticles[J]. *Biotechnology Journal*, 2017, 12(1): 1600408.
- [5] SUN J, FAN Y, ZHANG P, et al. Self-enriched mesoporous silica nanoparticle composite membrane with remarkable photodynamic antimicrobial performances[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2020, 559: 197-205.
- [6] WANG Y, ZHAO Q, HAN N, et al. Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications[J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2015, 11(2): 313-327.
- [7] GAO Y H, ZHANG Y H, HE S, et al. Fabrication of a hollow mesoporous silica hybrid to improve the targeting of a pesticide[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2019, 364: 361-369.
- [8] TAN W M, HOU N, PANG S, et al. Improved biological effects of uniconazole using porous hollow silica nanoparticles as carriers[J]. *Pest Management Science*, 2012, 68(3): 437-443.
- [9] FAVORS Z, WANG W, BAY H H, et al. Stable cycling of SiO₂ nanotubes as high-performance anodes for lithium-ion batteries[J]. *Scientific Reports*, 2014: 4: 4605.
- [10] SONG C Y, WANG C L, ZHU H Y, et al. Preparation, characterization and catalytic activity for CO oxidation of SiO₂ hollow spheres supporting CuO catalysts[J]. *Catalysis Letters*, 2008, 120(3/4): 215-220.
- [11] QI G G, WANG Y B, ESTEVEZ L, et al. Facile and scalable synthesis of monodispersed spherical capsules with a mesoporous shell[J]. *Chemistry of Materials*, 2010, 22(9): 2693-2695.
- [12] 郑昆, 杨红, 温刚, 等. 中空介孔二氧化硅纳米材料(HMSNs)的合成及其生物相容性[J]. *吉林大学学报(理学版)*, 2016, 54(1): 148-151.
- [13] TAO C Y, YAN H W, YUAN X D, et al. Synthesis of shape-controlled hollow silica nanostructures with a simple soft-templating method and their application as superhydrophobic antireflective coatings with ultralow refractive indices[J]. *Colloid Surface A Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2016, 501: 17-23.
- [14] KAO K C, TSOU C J, MOU C Y. Collapsed (kippah) hollow silica nanoparticles[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(28): 3454-3456.
- [15] LIU J, HARTONO S B, JIN Y G, et al. A facile vesicle template route to multi-shelled mesoporous silica hollow nanospheres[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2010, 20(22): 4595-4601.
- [16] MANDAL M, KRUK M. Family of single-micelle-tem-

- plated organosilica hollow nanospheres and nanotubes synthesized through adjustment of organosilica/surfactant ratio[J]. *Chemistry of Materials*, 2012, 24(1): 123-132.
- [17] HU Y, ZHANG Q, GOEBL J, et al. Control over the permeation of silica nanoshells by surface-protected etching with water[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2010, 12(38): 11836-11842.
- [18] 白杨, 吴宜凡, 卢洪燕, 等. 介孔二氧化硅和中空介孔二氧化硅载体用于提高难溶性药物溶出度的比较[J]. 沈阳药科大学学报, 2019, 36(4): 293-299.
- [19] ZHANG Q, ZHANG T, GE J, et al. Permeable silica shell through surface-protected etching[J]. *Nano Letters*, 2008, 8(9): 2867-2871.
- [20] 刘珍秀, 黄继光. 蝶形花亚科植物的杀虫、抑菌活性及其活性成分研究进展[J]. 农药, 2019, 58(6): 391-397.
- [21] 颜成生, 彭曙光, 单雪华, 等. 鱼藤酮对烟草斜纹夜蛾和烟青虫的防治效果[J]. 作物研究, 2015, 29(6): 647-650.
- [22] 中国农药信息网, 农药登记数据[EB/OL]. [2021-02-03]. <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>.
- [23] 李晓红, 黄志友, 杨贤均, 等. 不同品种烟草对斜纹夜蛾生活史和产卵选择行为的影响[J]. 植物保护, 2021, 47(1): 123-127.
- [24] 何晓婵, 余至秋, 周小军, 等. 不同类型生物杀虫剂对莲藕斜纹夜蛾的室内药效试验[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(7): 1167-1168.
- [25] TENG Z G, SU X D, ZHENG Y Y, et al. Mesoporous silica hollow spheres with ordered radial mesochannels by a spontaneous self-transformation approach[J]. *Chemistry of Materials*, 2013, 25(1): 98-105.
- [26] 沈殿晶, 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.
- [27] CHEN X J, XU H H, YANG W, et al. Research on the effect of photoprotectants on photostabilization of rotenone[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2009, 95(2): 93-100.
- [28] 徐志英, 任莉, 陈小军, 等. 2.5% 鱼藤酮微胶囊悬浮剂在普通白菜上的消解特性[J]. 中国蔬菜, 2018(11): 64-67.
- [29] COSTA P, SOUSA LOBO J M. Modeling and comparison of dissolution profiles[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2001, 13(2): 123-133.
- [30] ENGLAND C G, MILLER M C, KUTTAN A, et al. Release kinetics of paclitaxel and cisplatin from two and three layered gold nanoparticles[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 92: 120-129.
- [31] 叶玉杰, 任德全, 刘嵩, 等. Origin 软件拟合溶蚀型载体药物传输系统的 ritger-peppas 方程研究[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(4): 62-63.
- [32] HUSSAIN H I, YI Z, ROOKES J E, et al. Mesoporous silica nanoparticles as a biomolecule delivery vehicle in plants[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2013, 15(6): 1676.
- [33] GE J, LU M, WANG D, et al. Dissipation and distribution of chlorpyrifos in selected vegetables through foliage and root uptake[J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 201-206.
- [34] BIDYARANI N, KUMAR U. Synthesis of rotenone loaded zein nano-formulation for plant protection against pathogenic microbes[J]. *RSC Advances*, 2019, 9(70): 40819-40826.
- [35] 中华人民共和国卫生健康委员会、中华人民共和国农业农村部、国家市场监督管理总局. 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2021[S]. 北京: 中国农业出版社, 2021.

【责任编辑 霍欢】