甲硫氨酸修饰聚琥珀酰亚胺纳米戊唑醇的传导释放及对山药茎腐病的防效

刘国鑫 唐博文 侠天琦 冯晓晓 赵 斌 刘颖超*

（河北农业大学植物保护学院，保定 071000）

摘要：为解决山药茎腐病防治中传统药剂难以传导至根部的问题，用甲硫氨酸修饰聚琥珀酰亚胺纳米载体（polysuccinimide modified with methionine nanocarrier，PMA）负载戊唑醇（tebuconazole，Teb）构建pH响应型甲硫氨酸修饰聚琥珀酰亚胺纳米戊唑醇（tebuconazole-loaded polysuccinimide modified with methionine nanocarrier，Teb@PMA），采用核磁共振氢谱、傅里叶变换红外光谱、动态光散射、扫描电子显微镜等技术对纳米载体PMA和纳米农药Teb@PMA的结构和形态进行表征，并分析不同pH下纳米农药Teb@PMA的释放率、在叶片表面的接触角、耐冲刷能力、在植株体内的分布及对两种镰孢菌的生物活性和防效。结果显示：纳米农药Teb@PMA在pH 8.5条件下72 h累计释放率为89.23%；在叶片上的接触角比悬浮剂减小22.11%，滞留率为41.41%；该制剂具有良好的双向传导能力，施药后14 d在中部叶片和根中戊唑醇浓度分别为0.306 mg/kg和0.020 mg/kg，显著高于悬浮剂处理。纳米农药Teb@PMA对尖孢镰孢菌 *Fusarium oxysporum* 的有效中浓度EC_{50}为3.168 mg/L，对山药茎腐病的治疗防效为52.46%，较戊唑醇悬浮剂的治疗防效显著提高。表明纳米农药Teb@PMA显著提升了戊唑醇在植株体内的双向传导能力和对尖孢镰孢菌的活性，在防控土传病害方面具有潜力。

关键词：山药茎腐病；纳米农药；戊唑醇；pH响应；释放；双向传导

Bidirectional translocation and release of tebuconazole-loaded olysuccinimide modified with methionine nanocarrier for controlling yam stem rot

Liu Guoxin Tang Bowen Xie Tianqi Feng Xiaoxiao Zhao Bin Liu Yingchao*

（College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, Hebei Province, China）

Abstract: To address the challenge of poor root translocation of conventional fungicides for yam stem rot control, a pH-responsive methionine-modified polysuccinimide nanocarrier system loaded with tebuconazole (Teb@PMA) was constructed using encapsulating tebuconazole (Teb) within methionine-modified polysuccinimide (PMA) nanocarriers. The structures and morphologies of PMA and Teb@PMA were characterized by proton nuclear magnetic resonance, Fourier transform infrared spectroscopy, dynamic light scattering, and scanning electron microscopy. The pH-dependent release profiles, leaf surface wettability, rainfastness, plant tissue distribution, and bioactivities against two *Fusarium* species were systematically investigated. The results showed that the cumulative release rate reached 89.23% at 72 h under simulated phloem alkaline conditions (pH 8.5). Compared with tebuconazole suspension concentrate, Teb@PMA exhibited a 22.11% reduction in contact angle on leaf surfaces and an increased retention rate of 41.41%. Moreover, Teb@PMA exhibited excellent bidirectional

基金项目：河北省现代农业产业技术体系项目（HBCT2024110207），国家现代农业产业技术体系项目（CARS-21），河北省研究生创新资助项目（CXZZBS20225095）

* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：liuyingchao@hebau.edu.cn

收稿日期：2026-01-23

translocation. At 14 days after application, the tebuconazole content in middle leaves and roots was 0.306 mg/kg and 0.020 mg/kg, respectively, significantly higher than those of the suspension concentrate treatment. The *in vitro* toxicity assay showed that the EC_{50} of Teb@PMA against *Fusarium oxysporum* was 3.168 mg/L, and the *in vitro* test demonstrated that its curative efficacy against yam stem rot was 52.46%, significantly higher than that of the suspension concentrate (18.03%). Collectively, these findings indicate that the PMA nanocarrier delivery system substantially improves the bidirectional translocation of tebuconazole within plants and its activity against *F. oxysporum*, showing promising potential for the management of soil-borne diseases.

Key words: yam stem rot; nanopesticide; tebuconazole; pH-response; release; bidirectional translocation

山药 *Dioscorea opposita* 为薯蓣科薯蓣属 *Dioscorea* 多年生草质藤本植物，具有药用价值与食用价值（Ma et al.，2018；Liu et al.，2025）。随着中医药及食养文化的普及，其市场需求日益增长（王刚等，2025）。然而在栽培过程中山药常发生真菌病害，其中以镰孢菌 *Fusarium* 真菌引起的地下块茎腐烂（俗称茎腐病）最严重，常导致产量下降，品质变劣（曾荣等，2023）。Li et al.（2024）研究表明镰孢菌是山药茎腐病的优势病原菌，检出率高达 54.64%。目前该病的防治仍以化学药剂为主（Luo et al.，2020）。例如，在离体条件下戊唑醇、多菌灵、丙环唑等药剂对尖孢镰孢菌 *Fusarium oxysporum* 表现出良好的抑制作用，其中 0.5 mg/L 与 1.0 mg/L 浓度戊唑醇对尖孢镰孢菌菌丝生长的抑制率分别为 69.6% 与 80.6%。受传统农药理化性质的限制，叶片喷施时，有些化学药剂的有效成分难以通过植株有效传导至地下部分；土壤施药时，药剂易被土壤吸附，难以迁移至深层根区，致使靶标部位药剂有效浓度不足（Slomberg et al.，2017）。此外，镰孢菌侵染植株后可定殖于植株木质部导管等维管组织内，受植物组织物理屏障的影响，难以与常规施用的杀菌剂充分接触，进而影响防治效果（Wu et al.，2021）。

与传统农药相比，纳米载体在靶向递送和突破植物物理屏障方面具有明显优势（张芳等，2019，Wu et al.，2025）。一方面，纳米载体能显著提升农药在作物叶面的附着与沉积性能（Lin et al.，2023；Wan et al.，2023；Yang et al.，2024）。例如，陈秀琴等（2024）开发的 CS@HMS-EB 纳米载体显著提高了甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在玉米叶片表面的润湿、黏附和沉积能力；另一方面，纳米载体能促进农药活性成分被植物吸收并向根、茎等部位有效传导，克服传统农药内吸性差、难以远距离转运的局限（Afzal et al.，2024；Chang et al.，2024）。例如，葡聚糖基纳米载体可实现戊唑醇在植株体内快速双向运输（Xiong et al.，2024）；此外，纳米载体借助静电作用穿透病原菌细胞壁，吸附于细胞膜上，从而增强对病原真菌的抑制效果（石文波等，2024）。壳聚糖基纳米载体通过其表面与真菌细胞壁多糖的相互作用来提高抑菌作用（Wu et al.，2023；Liu et al.，2024）。聚琥珀酰亚胺是构建纳米载体的常用材料之一，其衍生物具有良好的生物相容性与生物降解性，在农药的靶向递送方面展现出较大的应用潜力（Deng et al.，2024）。甲硫氨酸作为植物内源性氨基酸，参与蛋白质合成、乙烯生物合成及 DNA 甲基化等多种关键生理过程，并在调控植物免疫中具有重要作用，是修饰聚琥珀酰亚胺纳米载体的理想选择（Escaray et al.，2022；Tanaka et al.，2024）。Xia et al.（2025）研究表明利用植物内源性物质修饰纳米载体可促进农药有效成分跨越细胞壁和细胞膜，从而增强其在植物体内的吸收与转运效率。如果将甲硫氨酸引入纳米载体中，其有望通过增强纳米载体与植物互作来提升农药的递送效率，从而提高对病害的防控效果。

为有效提高戊唑醇在植物体内的吸收和传导，通过开环胺化反应构建甲硫氨酸修饰聚琥珀酰亚胺纳米载体（polysuccinimide modified with methionine nanocarrier，PMA），并将戊唑醇负载到纳米载体 PMA 中，得到甲硫氨酸修饰聚琥珀酰亚胺纳米戊唑醇（tebuconazole-loaded polysuccinimide modified with methionine nanocarrier，Teb@PMA），采用核磁共振氢谱、傅里叶变换红外光谱、动态光散射、扫描电子显微镜等技术对纳米载体 PMA 和纳米农药 Teb@PMA 进行表征，并研究不同 pH 下纳米农药 Teb@PMA 的释放率、在叶片表面的接触角、耐冲刷能力、在植株体内的分布及对两种镰孢菌的生物活性和防效，以期为山药茎腐病等土传病害的防治提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植物和病原菌：山药品种为小白嘴，其零余子与块茎采自河北省安国市明官店乡大南流山药基地；将零余子播种于装有蛭石、长20 cm、宽10 cm、高2 cm的育苗盘中（含水量40%），待萌发出芽约2 cm后移栽至长10 cm、宽10 cm、高20 cm、装有混合基质（营养土与蛭石体积比为3∶1）的盆中，每盆定植1株，待15叶期供试。尖孢镰孢菌和茄病镰孢菌*F. solani*由河北农业大学植物保护学院农药残留与安全性评价实验室分离并保存。

试剂和农药：聚琥珀酰亚胺，上海麦克林生化科技有限公司；其他试剂均为国产分析纯。98%戊唑醇（tebuconazole）原药以及430 g/L戊唑醇悬浮剂，河北威远生物化工有限公司。

马铃薯葡萄糖琼脂（potato dextrose agar，PDA）培养基：马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂粉20 g，去离子水1 L。

仪器：QuEChERS分散固相萃取净化管、Prisma E型扫描电子显微镜，美国赛默飞世尔公司；AVANCE NEO 400 MHz核磁共振波谱仪、Vertex 70型傅里叶变换红外光谱仪，德国布鲁克公司；Zetasizer Nano ZSE动态光散射仪，英国马尔文帕纳科公司；PerkinElmer STA6000热重分析仪，美国珀金埃尔默公司；KZS-30接触角测定仪，东莞市科众精密仪器有限公司；Agilent 1290高效液相色谱仪，美国安捷伦科技有限公司；Shimadzu LC30高效液相色谱仪，日本岛津公司；Triple Quad™ 5500三重四极杆质谱仪，美国AB Sciex公司。

1.2 方法

1.2.1 纳米农药Teb@PMA的制备

称取0.97 g聚琥珀酰亚胺溶于5 mL N，N-二甲基甲酰胺（N，N-dimethylformamide，DMF）中，制成聚琥珀酰亚胺溶液；另取1.97 g甲硫氨酸甲酯盐酸盐和1.55 mL二正丁胺共同溶于5 mL DMF中，剧烈搅拌后将混合溶液逐滴加入到聚琥珀酰亚胺溶液中，室温120 r/min搅拌反应12 h后将其边搅拌边缓慢滴入pH 2.5、300 mL柠檬酸缓冲液中，10 000 r/min离心10 min，收集沉淀，去离子水洗涤3次后于−80 ℃、20 Pa条件下冷冻干燥12 h，得到纳米载体PMA。取0.1 g纳米载体PMA和0.1 g戊唑醇原药共同溶于5 mL DMF中，剧烈搅拌后将其缓慢均匀滴入45 mL去离子水中，120 r/min搅拌2 h；10 000 r/min离心10 min收集沉淀，用DMF和水的混合溶液（DMF与水的体积比为2∶9）洗涤3次，−80 ℃、20 Pa条件下冷冻干燥12 h，得到纳米农药Teb@PMA。

1.2.2 PMA和纳米农药Teb@PMA的表征

采用质子核磁共振氢谱分析聚琥珀酰亚胺和纳米载体PMA的化学结构，以二甲基亚砜残余溶剂峰（化学位移为3.33×10^{-6}）为内标进行化学位移校正；采用傅里叶变换红外光谱在400~4 000 cm^{-1}波数范围内分析纳米载体PMA、纳米农药Teb@PMA和戊唑醇原药的官能团；采用动态光散射仪测定纳米农药Teb@PMA的流体动力学直径；采用扫描电子显微镜观察纳米载体PMA和纳米农药Teb@PMA的形态特征；采用热重分析仪测定300 ℃时纳米农药Teb@PMA的剩余质量分数和纳米载体PMA的剩余质量分数，根据公式计算载药率。载药率=纳米载体PMA的剩余质量分数−纳米农药Teb@PMA的剩余质量分数。

1.2.3 不同pH下纳米农药Teb@PMA释放率的测定

配制pH分别为5.5、7.0和8.5（韧皮部碱性环境）的含30%乙醇的磷酸盐缓冲液100 mL，分别取5 mL和有效成分为10 mg的纳米农药Teb@PMA一同置于截留分子量为3 000 kD的透析袋中，将透析袋分别置于相应pH的磷酸盐缓冲液中，120 r/min搅拌，分别于搅拌后0.5、4、8、12、24、36、48、60、72、84和96 h取样，每个处理吸取1 mL，采用高效液相色谱仪测定其中戊唑醇的浓度，同时补充等体积对应pH的磷酸盐缓冲液。根据公式计算戊唑醇的累计释放率。累计释放率=$V_e\sum_{i=1}^{n}C_i/M_p\times100\%$，式中，$V_e$为不同时间吸取的释放介质体积，取值为1 mL；$C_i$为第$i$次取样时释放介质中戊唑醇的浓度；$M_p$为纳米农药Teb@PMA中负载的戊唑醇总质量。为探究纳米农药Teb@PMA在不同pH条件下的释放机制，采用Higuchi、零级速率、一级速率和Ritger-Pappas四种动力学模型对释放数据进行拟合。其中，Higuchi模型表示释放量与时间的平方根成正比，适用于扩散控制的骨架释药体系；零级速率模型表示药物以恒定速率释放；一级模型表示释放速率与剩余药量成正比；Ritger-Peppas模型通过释放指数n值判断释放机制，当$n\leq0.45$时为Fickian扩散，即扩散通量与浓度梯度成正比；当$0.45<n<0.89$时为非Fickian扩散（陈艺欣等，2024；Zhang et al.，2025）。

1.2.4 纳米农药Teb@PMA在叶片表面接触角的测定

为评价纳米农药Teb@PMA和戊唑醇悬浮剂在

山药叶片上的润湿展布性能，采用接触角测定仪测定这两种制剂在山药叶片表面的接触角。用去离子水将纳米农药Teb@PMA及430 g/L戊唑醇悬浮剂稀释至150 mg/L，各取2 μL垂直滴于平整的山药叶片上，静置30 s，读取接触角。以去离子水为对照，每个处理重复5次。

1.2.5 纳米农药Teb@PMA耐冲刷能力的测定

取生长一致完全展开的山药叶片20片，固定于倾角60°的支架上。用去离子水将纳米农药Teb@PMA浓度稀释至150 mg/L，取10 mL均匀喷施于叶片表面，室温晾干。取10片叶片用45 mL去离子水以恒定流速模拟雨水冲刷1 min，晾干，打取直径为1.4 cm的叶碟30片；剩余10片叶片作为未冲刷对照，打取直径为1.4 cm的叶碟30片。戊唑醇悬浮剂处理及打取叶碟方法同上。采用高效液相色谱–串联质谱法测定叶碟中戊唑醇质量，计算沉积量和滞留率。沉积量=叶碟中戊唑醇的质量/叶碟面积。滞留率=冲刷后的沉积量/冲刷前的沉积量×100%。

1.2.6 纳米农药Teb@PMA在山药植株中分布的测定

选取长势一致的健康山药植株，每株自下而上的第6~10叶片分别涂抹浓度均为150 mg/L的纳米农药Teb@PMA和戊唑醇悬浮剂（对照），每片叶片涂抹100 μL，每种药剂处理3株（1个重复），每个处理重复3次。施药后第1、3、5、7、14天分别采集植株上部叶片5片（第11~15叶片）、中部叶片5片（第6~10叶片）、下部叶片5片（第1~5叶片）及根。样品用去离子水冲洗3次，吸水纸吸干表面水分。采用改进的QuEChERS方法提取样品中戊唑醇。准确称取捣碎的样品2.00 g，加入1 mL超纯水和10 mL乙腈，2 500 r/min振荡提取5 min；加入1 g氯化钠，涡旋振荡5 min，4 000 r/min离心5 min；取1 mL上清液加入至净化管中，涡旋振荡15 s，8 000 r/min离心5 min，取上清液，过0.22 μm滤膜后获得待测液。采用高效液相色谱–串联质谱法检测待测液中戊唑醇质量。每个处理重复3次。

1.2.7 纳米农药Teb@PMA对镰孢菌生物活性的测定

采用菌丝生长速率法测定纳米农药Teb@PMA对尖孢镰孢菌和茄病镰孢菌的生物活性。用二甲基亚砜分别将纳米农药Teb@PMA、430 g/L戊唑醇悬浮剂和98%戊唑醇原药配制成有效浓度为6.25、25、50、100、200、400、1 600 mg/L的母液，再用含1% Silwet L-77的无菌水稀释10倍，然后将不同浓度的药液分别与PDA培养基按1∶9体积比混合制成含药平板，其中用于测定对尖孢镰孢菌生物活性的系列浓度均为0.25、0.5、1、2和4 mg/L，用于测定对茄病镰孢菌生物活性的系列浓度均为0.0625、0.25、1、4和16 mg/L，以仅同时添加了0.1%二甲基亚砜和0.1% Silwet L-77的PDA平板为对照，每个处理重复3次。用无菌打孔器在尖孢镰孢菌和茄病镰孢菌菌落边缘打取直径为5 mm的菌饼，分别接种至含药PDA平板中央，28 ℃黑暗培养5 d。采用十字交叉法测量菌落直径，计算菌丝生长抑制率。抑制率=（对照菌落直径–处理菌落直径）/对照菌落直径×100%。采用SPSS 26.0软件对抑制率进行Probit回归分析，计算毒力回归方程和有效中浓度EC_{50}。

1.2.8 纳米农药Teb@PMA对山药茎腐病防效的测定

采用离体方法测定纳米农药Teb@PMA对山药茎腐病的保护防效与治疗防效。将尖孢镰孢菌和茄病镰孢菌分别接种至PDA平板上，于（27±0.5）℃黑暗培养5 d，用无菌水洗脱分生孢子，调节其浓度至1×10^6 CFU/mL，制成孢子悬浮液。将健康山药块茎切成3 cm小段，75%乙醇消毒5 min，无菌水漂洗晾干，分成两组。第1组：取10 mL有效浓度均为150 mg/L的纳米农药Teb@PMA和戊唑醇悬浮剂均匀喷施于山药段表面，以喷施10 mL无菌水为对照，27 ℃保湿24 h，每段山药段用针刺深约1 cm的伤口并分别接种100 μL浓度为1×10^6 CFU/mL的尖孢镰孢菌孢子悬浮液，10 d后调查发病情况；第2组：先在山药段上用针刺深约1 cm的伤口，接种100 μL浓度为1×10^6 CFU/mL的尖孢镰孢菌孢子悬浮液，27 ℃保湿24 h，再分别喷施10 mL有效浓度均为150 mg/L的纳米农药Teb@PMA和戊唑醇悬浮剂，以喷施等量无菌水为对照，10 d后调查发病情况。每个处理重复3次，每次重复10个山药段。使用ImageJ软件测量病斑面积，并计算防效。防效=（对照组平均病斑面积–处理组平均病斑面积）/对照组平均病斑面积×100%。对茄病镰孢菌的防效试验方法同上。

1.3 数据分析

采用SPSS 26.0软件对数据进行单因素方差分析，应用独立样本t检验法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 纳米农药Teb@PMA的表征

2.1.1 纳米农药Teb@PMA的质子核磁共振谱

与聚琥珀酰亚胺相比，纳米载体PMA的化学位移在2.89×10^{-6}与3.66×10^{-6}处新增两个特征峰，分别对应于甲硫氨酸甲酯结构中的–S–CH_3和–$COOCH_3$

基团上的质子，在7.98×10⁻⁶处出现的低场信号为新形成的酰胺键中的–NH质子（图1）。表明甲硫氨酸甲酯已通过酰胺键成功接枝到聚琥珀酰亚胺骨架上，合成了目标产物纳米载体PMA。

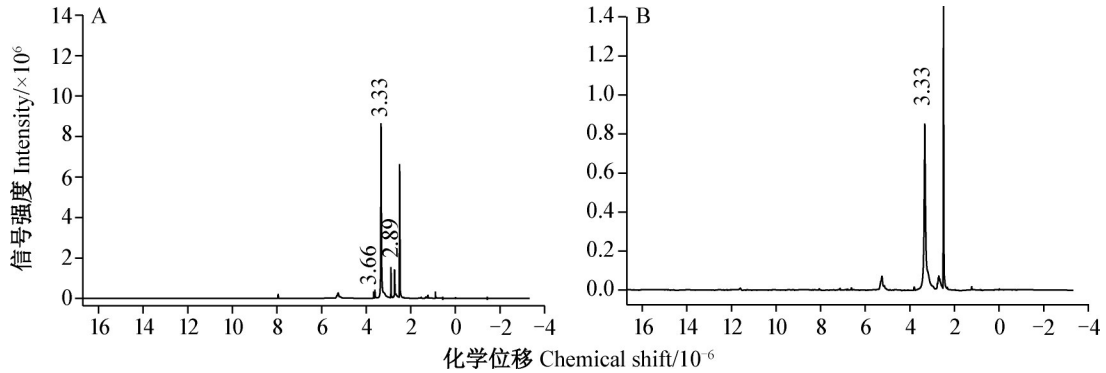


图1 纳米载体PMA（A）和聚琥珀酰亚胺（B）质子核磁共振谱

Fig. 1 Proton nuclear magnetic resonance spectra of nanocarrier PMA (A) and polysuccinimide (B)

2.1.2 纳米农药Teb@PMA的傅里叶红外光谱

在戊唑醇原药的傅里叶红外光谱图中，3 300 cm⁻¹附近的宽峰为三唑环中N–H键的伸缩振动；1 450~1 600 cm⁻¹范围内的多重峰为氯苯基中苯环的C=C骨架振动；750~850 cm⁻¹区域出现的吸收峰则源于C–Cl键的伸缩振动（图2-A）；在纳米载体PMA的傅里叶红外光谱图中，1 717 cm⁻¹处出现明显的特征峰，为新形成的酰胺键中羰基的伸缩振动，1 218 cm⁻¹处的特征峰为C–N伸缩振动与C–C振动的耦合，表明甲硫氨酸甲酯已成功通过酰胺键接枝于聚琥珀酰亚胺骨架上（图2-B）；在纳米农药Teb@PMA的傅里叶红外光谱图中，同时保留了纳米载体PMA在1 717 cm⁻¹和1 218 cm⁻¹处的酰胺羰基特征峰以及戊唑醇悬浮剂在3 300、1 450~1 600和750~850 cm⁻¹处的典型吸收峰，说明戊唑醇已成功负载于纳米载体PMA中（图2-C）。

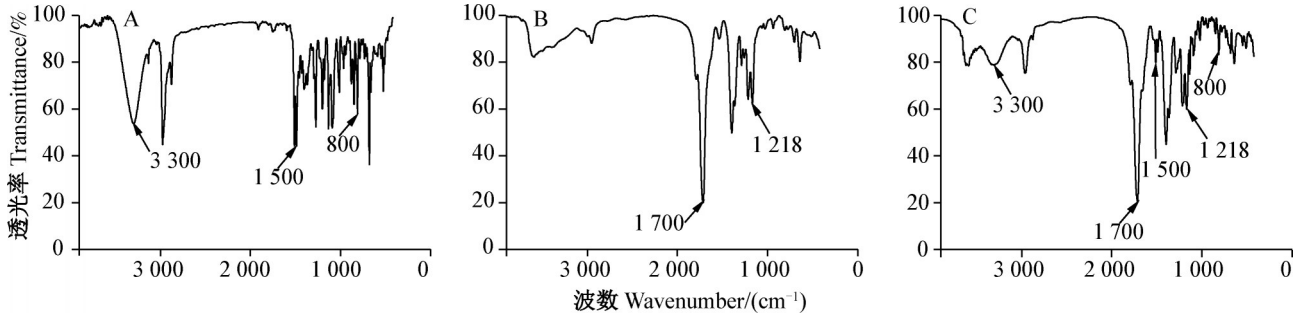


图2 戊唑醇原药（A）、纳米载体PMA（B）和纳米农药Teb@PMA（C）的傅里叶红外光谱图

Fig. 2 Fourier transform infrared spectra of tebuconazole technical material (A), nanocarrier PMA (B), and the nanopesticide Teb@PMA(C)

2.1.3 纳米农药Teb@PMA的粒径大小及其形态

纳米农药Teb@PMA的粒径介于220~400 nm之间，平均粒径为241 nm（图3-A）。在扫描电镜下，纳米载体PMA呈近似圆球状（图3-B）；而纳米农药Teb@PMA呈规则圆球状（图3-C），其粒径较纳米载体PMA的显著增加，表明戊唑醇成功负载到纳米载体PMA中。

2.1.4 纳米农药Teb@PMA的载药率

200 ℃左右时戊唑醇原药开始热分解，300 ℃时剩余质量分数为0；30 ℃时纳米载体PMA开始热分解，300 ℃时剩余质量分数为88.22%；300 ℃时纳米农药Teb@PMA剩余质量分数为60.04%（图4）。经计算戊唑醇在纳米农药Teb@PMA中的载药率为28.18%。

2.2 不同pH下纳米农药Teb@PMA的体外释放率

纳米农药Teb@PMA的释放具有显著的pH依赖性（图5）。当pH为8.5时纳米农药Teb@PMA的释放最快，72 h累计释放率为89.23%，当pH为7.0和5.5时释放明显减缓，96 h累计释放率分别为66.22%和32.22%（图5）。在3种pH下，纳米农药Teb@PMA中戊唑醇释放过程均符合Higuchi模型（R^2>0.950，图5-A）；在碱性条件下，纳米农药Teb@PMA中戊

唑醇释放过程更符合 Ritger-Peppas 模型（R^2=0.990，图 5-D），此时扩散指数为 0.422，符合 Fickian 扩散机制。表明纳米农药 Teb@PMA 中戊唑醇在韧皮部碱性环境（pH 8.5）下通过被动扩散实现药物的快速释放。

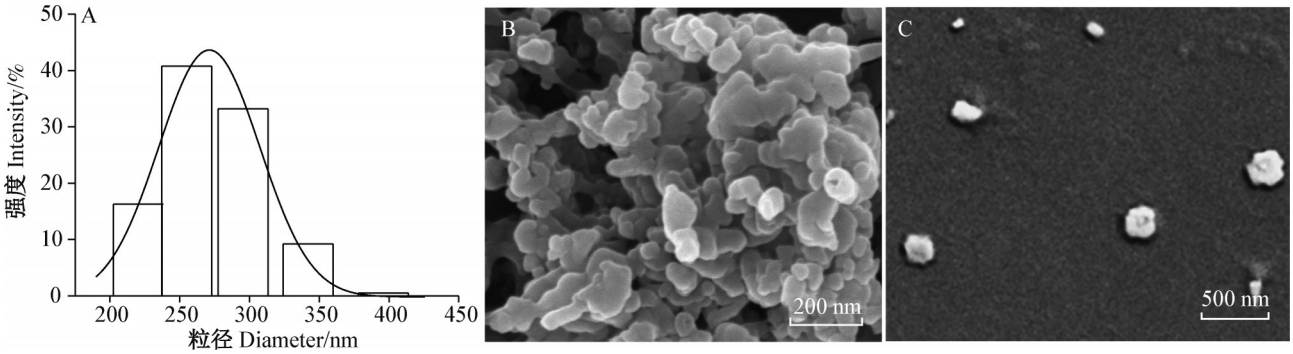


图 3　纳米农药 Teb@PMA 的粒径分布图（A）及纳米载体 PMA（B）和纳米农药 Teb@PMA（C）的扫描电镜图

Fig. 3　Particle size distribution of nanopesticide Teb@PMA (A), and SEM images of nanocarrier PMA (B) and nanopesticide Teb@PMA (C)

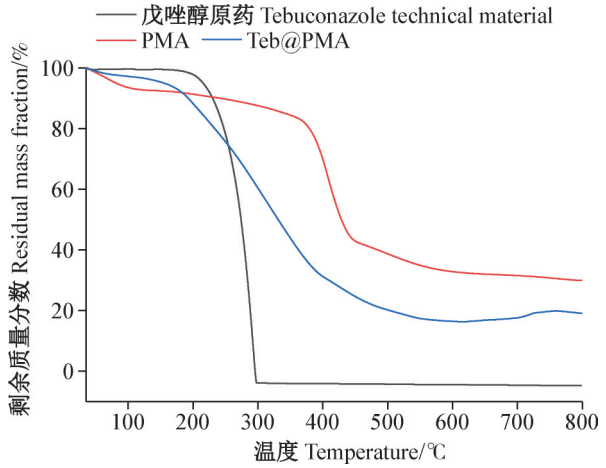


图 4　戊唑醇原药、甲硫氨酸修饰纳米载体 PMA 和纳米农药 Teb@PMA 的热重分析曲线

Fig. 4　Thermogravimetric analysis curves of tebuconazole technical, methionine-modified polysuccinimide nanocarrier (PMA), and nanopesticide Teb@PMA

2.3　纳米农药 Teb@PMA 在叶片表面的接触角

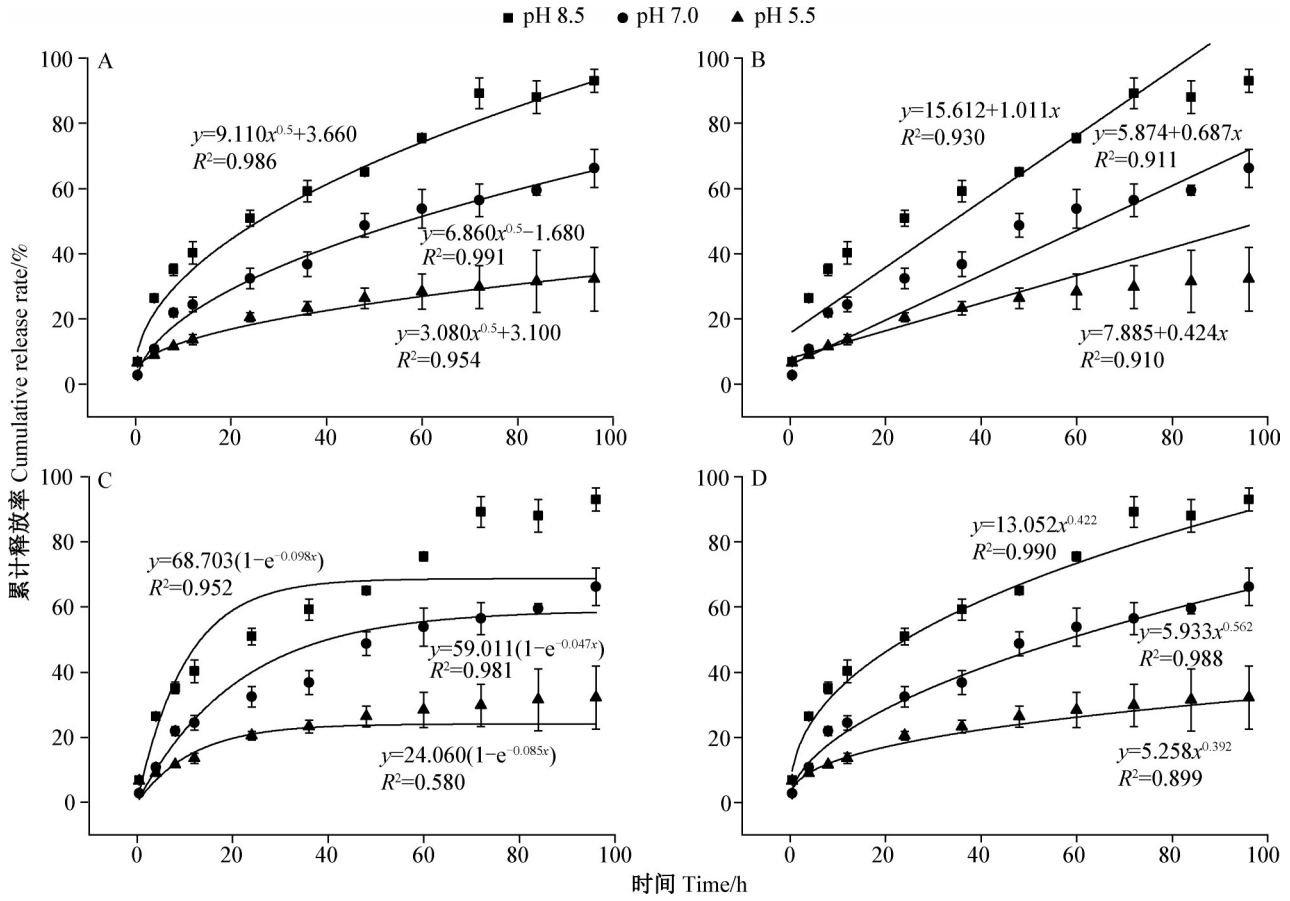
超纯水、戊唑醇悬浮剂和纳米农药 Teb@PMA 在山药叶片上的接触角分别为 86°、82°和 66°，其中纳米农药 Teb@PMA 在山药叶片上的接触角比戊唑醇悬浮剂的减小了 22.11%，表明纳米农药 Teb@PMA 可有效降低液滴表面张力，增强药液在叶片表面的湿润展布能力。

2.4　纳米农药 Teb@PMA 的耐冲刷能力

雨水冲刷前，纳米农药 Teb@PMA 和戊唑醇悬浮剂在山药叶片上的沉积量分别为 118.77 ng/cm^{2}和 91.40 ng/cm^2，前者显著高于后者（P<0.05）；雨水冲刷后，纳米农药 Teb@PMA 和戊唑醇悬浮剂在山药叶片上的沉积量分别为 49.18 ng/cm^{2}和 32.62 ng/cm^2，滞留率分别为 41.41% 和 35.69%（图 6）。表明纳米农药 Teb@PMA 可显著增加戊唑醇在山药叶片上的稳定性和耐雨水冲刷能力，有助于提高农药利用效率并减少叶面流失。

2.5　纳米农药 Teb@PMA 在山药植株中分布

叶面喷施纳米农药 Teb@PMA 和戊唑醇悬浮剂后，山药各部分叶片中均检测到戊唑醇，其中自喷施后第 3 天开始，纳米农药 Teb@PMA 处理的中部片中戊唑醇浓度始终显著高于戊唑醇悬浮剂处理叶片（P<0.05），喷施后第 14 天戊唑醇悬浮剂处理的中部叶片中戊唑醇浓度降至 0.014 mg/kg，而纳米农药 Teb@PMA 处理的中部叶片中戊唑醇浓度仍维持在 0.306 mg/kg（图 7-A），表明纳米农药 Teb@PMA 提升了山药叶片对戊唑醇的吸收。纳米农药 Teb@PMA 处理后第 1 天和第 3 天，山药上部叶片中戊唑醇浓度分别为 0.365 mg/kg 和 0.420 mg/kg，显著高于戊唑醇悬浮剂处理叶片（0.077 mg/kg 和 0.285 mg/kg）（P<0.05），而其他时间两者之间均差异不显著（图 7-B），表明纳米农药 Teb@PMA 向上传导速度更快，效率更高。纳米农药 Teb@PMA 处理后第 1 天山药下部叶片中戊唑醇浓度为 0.184 mg/kg，处理后第 14 天达到 0.429 mg/kg；而戊唑醇悬浮剂处理后第 1 天山药下部叶片中戊唑醇浓度为 0.098 mg/kg，处理后第 14 天浓度仅为 0.014 mg/kg（图 7-C），表明纳米农药 Teb@PMA 有较强的向下传导能力。纳米农药 Teb@PMA 处理后第 14 天山药根中戊唑醇浓度为 0.020 mg/kg，而戊唑醇悬浮剂处理后第 7 天山药根中未能检出戊唑醇（图 7-D）。综上所述，纳米农药 Teb@PMA 可显著提升戊唑醇在山药植株中的吸收和双向传导能力。



A~D: Higuchi、零级速率、一级速率和Ritger-Pappas模型。A–D: Higuchi, zero-order, first-order, and Ritger-Pappas models.

图5 不同pH下纳米农药Teb@PMA中戊唑醇的体外释放曲线

Fig. 5 Release profiles of tebuconazole from nanopesticide Teb@PMA at different pH values *in vitro*

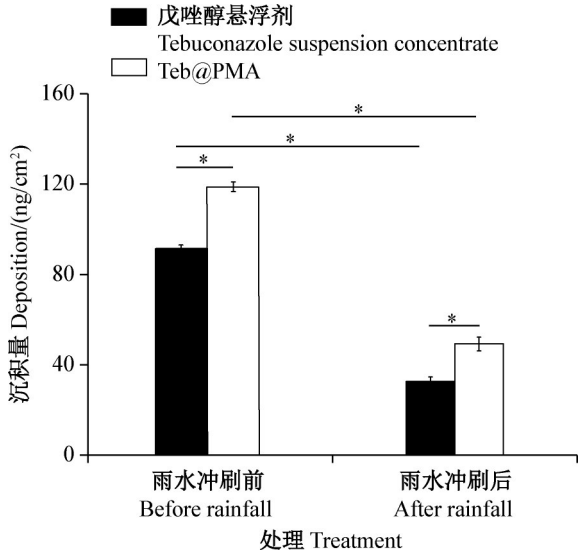


图6 纳米农药Teb@PMA在叶片上的单位面积滞留量

Fig. 6 Deposition of nanopesticide Teb@PMA on leaves per unit area

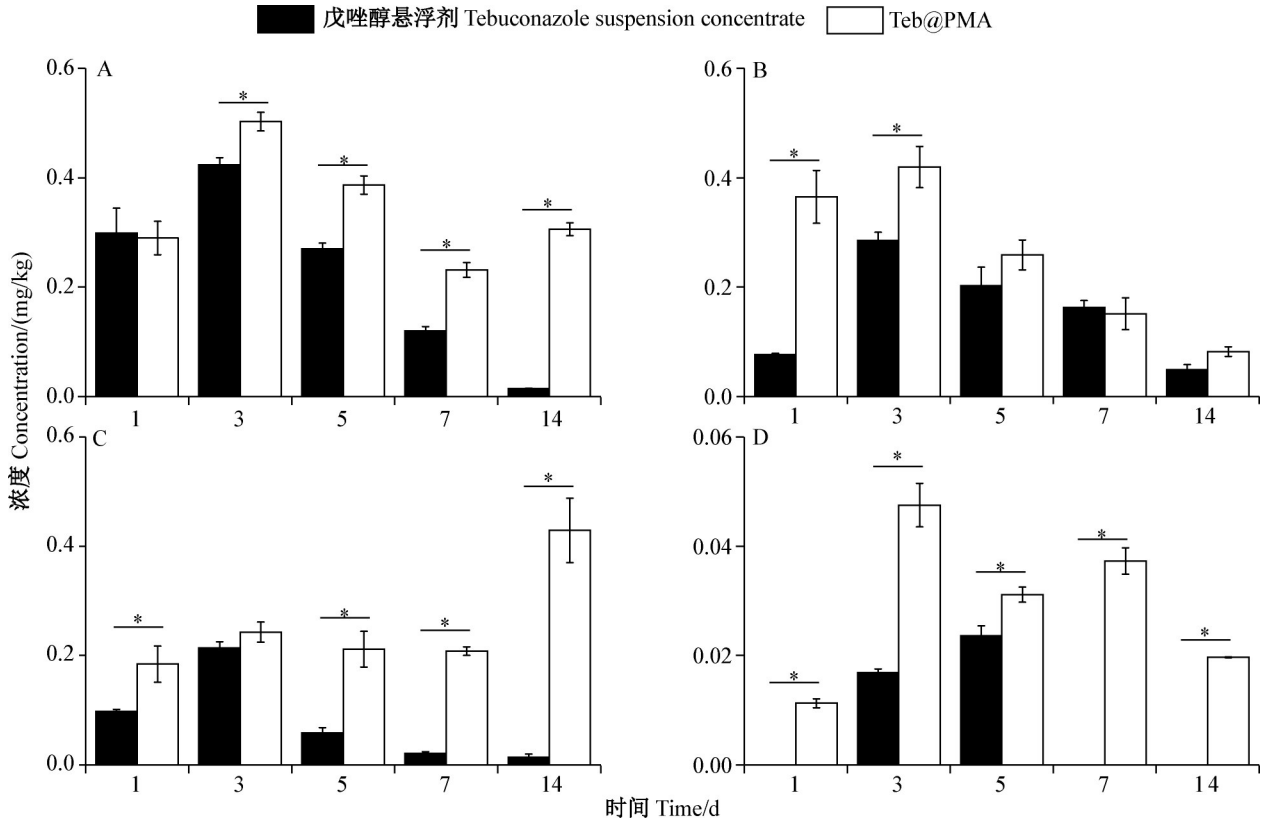
图中数据为平均数±标准差。*表示经独立样本*t*检验法检验差异显著(P<0.05)。Data are mean±SD. * indicates a significant difference according to independent samples *t* test (P<0.05).

2.6 纳米农药Teb@PMA对镰孢菌的生物活性

纳米农药Teb@PMA对尖孢镰孢菌的EC_{50}为3.168 mg/L,明显低于戊唑醇悬浮剂(7.786 mg/L)和戊唑醇原药(5.279 mg/L);而纳米农药Teb@PMA、戊唑醇悬浮剂和戊唑醇原药对茄病镰孢菌的EC_{50}差异不大,分别为1.417、1.650与1.333 mg/L(表1)。表明纳米农药Teb@PMA可显著提升戊唑醇对尖孢镰孢菌的生物活性。

2.7 纳米农药Teb@PMA对山药茎腐病的防效

纳米农药Teb@PMA对尖孢镰孢菌引起的山药茎腐病的保护效果和治疗效果分别为59.03%和52.46%,显著高于戊唑醇悬浮剂的保护效果和治疗效果(47.42%和18.03%)(P<0.05,表2);纳米农药Teb@PMA和戊唑醇悬浮剂对茄病镰孢菌引起的山药茎腐病的保护效果和治疗效果无显著差异(表2)。表明纳米农药Teb@PMA对尖孢镰孢菌的抑制活性较戊唑醇悬浮剂增强,从而对其引起的山药茎腐病表现出良好的防治潜力。



A~D: 中部、上部、下部叶片及根。A–D: Middle, upper, and lower leaves and roots.

图7 喷施纳米农药Teb@PMA和戊唑醇悬浮剂后山药各组织中戊唑醇浓度

Fig. 7 Tebuconazole concentrations in different tissues of yam plants after foliar application of Teb@PMA and tebuconazole suspension concentrate

图中数据为平均数±标准差。*表示经独立样本*t*检验法检验差异显著(P<0.05)。Data are mean±SD. * indicates a significant difference according to independent samples *t* test (P<0.05).

表1 不同剂型戊唑醇对尖孢镰孢菌和茄病镰孢菌的生物活性

Table 1 *In vitro* fungicidal activities of different tebuconazole formulations against *Fusarium oxysporum* and *F. solani*

菌 Fungi	处理 Treatment	毒力回归方程 Virulence regression equation	有效中浓度 Effective medium concentration/(mg/L)	95%置信区间 95% confidence interval/(mg/L)	R^2
尖孢镰孢菌 *F. oxysporum*	戊唑醇原药 Tebuconazole technical	y=0.96+1.36x	5.279	4.129–6.985	0.951
	戊唑醇悬浮剂 Tebuconazole suspension concentrate	y=1.19+1.34x	7.786	6.049–10.446	0.989
	纳米农药Teb@PMA Nanopesticide Teb@PMA	y=0.62+1.22x	3.168	2.505–4.104	0.963
茄病镰孢菌 *F. solani*	戊唑醇原药 Tebuconazole technical	y=0.17+1.35x	1.333	1.113–1.626	0.970
	戊唑醇悬浮剂 Tebuconazole suspension concentrate	y=0.28+1.28x	1.650	1.354–2.086	0.979
	纳米农药Teb@PMA Nanopesticide Teb@PMA	y=0.22+1.45x	1.417	1.196–1.712	0.989

x表示药剂浓度对数值，y表示抑制率的概率值。x represents the logarithmic value of the agent concentration, and y represents the probit value of the inhibition rate.

表2 不同剂型戊唑醇对不同镰孢菌引起的山药茎腐病的治疗效果和保护效果

Table 2 Curative and protective efficacies of different tebuconazole formulations against yam stem rot caused bydifferent *Fusarium* spp.

处理 Treatment	治疗效果 Curative efficacy /%		保护效果 Protective efficacy/%	
	尖孢镰孢菌 *F. oxysporum*	茄病镰孢菌 *F. solani*	尖孢镰孢菌 *F. oxysporum*	茄病镰孢菌 *F. solani*
戊唑醇悬浮剂 Tebuconazole suspension concentrate	18.03±6.78 b	40.53±6.11 a	47.42±5.34 b	67.61±6.12 a
纳米农药Teb@PMA Nanopesticide Teb@PMA	52.46±2.69 a	37.15±4.65 a	59.03±2.36 a	34.68±5.09 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经独立样本*t*检验法检验差异显著（$P<0.05$）。Data are mean±SD. Different lowercase letters within the same column indicate significant difference according to independent samples *t* test ($P<0.05$).

3 讨论

利用氨基酸修饰纳米载体可增强农药在植物体内的递送，这已成为提升病害防效的重要策略（闫硕等，2022；Xia et al.，2025）。氨基酸作为植物生长发育所必需的小分子，其运输与分配主要由特定的氨基酸转运蛋白介导（Yang et al.，2020）。这为纳米载体模拟氨基酸、借助转运蛋白系统实现农药的高效递送提供了理论依据（Xia et al.，2025）。例如，Deng et al.（2024）构建了γ-氨基丁酸、天冬氨酸、甘氨酸3种氨基酸修饰的聚琥珀酰亚胺纳米载体来负载噻虫嗪，结果显示甘氨酸修饰的聚琥珀酰亚胺纳米载体可将豇豆*Vigna unguiculata*叶片中噻虫嗪含量提高2.3倍。He et al.（2024）构建了γ-氨基丁酸修饰的聚琥珀酰亚胺纳米载体来负载咯菌腈，该药剂对香蕉枯萎病的防效约为常规咯菌腈可湿性粉剂的20倍。本研究采用甲硫氨酸修饰纳米载体来负载戊唑醇，在氨基酸种类和靶标作物上均有所拓展，可为氨基酸修饰纳米载体在土传病害防控中的应用提供依据。

本研究结果显示纳米农药Teb@PMA有良好的pH响应性能，在碱性环境下加速释放，在酸性条件下表现较好的稳定性。Deng et al.（2024）研究结果显示甘氨酸修饰的聚琥珀酰亚胺纳米载体在碱性环境中表现出较高的释放率，与本研究结果一致，究其原因可能是聚琥珀酰亚胺骨架中琥珀酰亚胺单元在碱性条件下容易水解，导致纳米结构崩解，从而加速药物释放。同时纳米农药Teb@PMA的释放规律与植物韧皮部内pH吻合，可有效增加病原菌与有效成分的接触，从而提高农药的有效利用率（吴瀚翔等，2021）。

本研究结果显示纳米农药Teb@PMA在山药叶片上的接触角较戊唑醇悬浮剂显著降低，滞留率显著增高。Xie et al.（2024）制备的海胆状纳米载体PANI/HACC负载嘧菌酯在水稻和黄瓜叶片上的滞留率分别达61.4%和64.6%，显著高于市售嘧菌酯水分散粒剂（42.1%和24.5%）和悬浮剂（23.1%和58.8%）。海胆状纳米载体表面的纳米级尖刺可嵌入叶片蜡质层之间的缝隙从而实现稳定附着。与上述通过形貌增强附着力的策略不同，本研究主要通过甲硫氨酸修饰改善纳米载体的表面化学性质来降低表面张力，纳米载体PMA表面的亲脂性基团–SCH_3与叶片蜡质层中脂肪酸、醇类等组分形成氢键或疏水相互作用，从而增强在山药叶片的附着能力（Zhang et al.，2025）。本研究结果显示在山药植株体内纳米农药Teb@PMA的传导能力明显优于戊唑醇悬浮剂，推测纳米载体PMA可模拟内源性氨基酸进而借助植物体内氨基酸转运蛋白介导的途径实现纳米农药Teb@PMA在韧皮部的装载与卸载（Xiong et al.，2024）。Xia et al.（2025）研究结果证实氨基酸转运蛋白通过介导氨基酸修饰的纳米载体在韧皮部的装载与卸载过程来提升该纳米农药在玉米和拟南芥*Arabidopsis thaliana*中的传导能力。这一特性对于根部及茎基部土传病原菌的防控具有潜在的应用价值。

本研究结果表明纳米农药Teb@PMA对尖孢镰孢菌的抑制作用及对其引起的山药茎腐病的防效显著优于戊唑醇悬浮剂，但对茄病镰孢菌的防效提升不明显。这种抑菌活性的种间差异可能源于纳米载体与不同真菌细胞壁组分相互作用的特异性。一方面，纳米载体可通过静电作用吸附于细胞壁表面，其吸附效率受菌体表面电位影响（Wu et al.，2023）；另一方面，不同真菌细胞壁的组成、厚度及孔隙度存在差异，直接影响纳米载体的渗透效率（Xia et al.，2025）。因此，未来解析不同真菌细胞壁结构与纳米载体表面特性的匹配机制，是深入理解纳米农药种

间差异的主要方向（Rocha et al.，2025）。

综上所述，本研究构建的纳米农药Teb@PMA在提升戊唑醇叶面附着稳定性、促进植株体内传导及增强对尖孢镰孢菌抑制活性方面优势明显，验证了氨基酸修饰纳米载体在土传病害防控中的可行性与应用潜力。然而，纳米载体与植物细胞及病原真菌之间的界面互作机制尚待深入解析（Liu et al.，2024；Xu et al.，2026）。纳米农药Teb@PMA在山药植株体内的传导机制仍需进一步验证（Xiao et al.，2024；Xia et al.，2025）。此外，纳米农药Teb@PMA对非靶标生物的生态安全性尚需系统评估，其在盆栽及大田条件下的实际防效也亟待验证（杜谦等，2023；Li et al. 2023），从而为基于纳米技术的土传病害绿色防控提供更坚实的理论依据。

参 考 文 献（References）

Afzal S, Singh NK, Lal AF, Sohrab S, Singh N, Gupta PS, Mishra SK, Adeel M, Faizan M, 2024. Nanostructure and plant uptake: assessing the ecological footprint and root-to-leaf dynamics[J]. Plant Nano Biology, 10: 100122

Chang JM, Liao FX, Xiong WH, Tian W, Zhang KK, 2024. Unveiling the absorption, translocation, and metabolism of penthiopyrad in pakchoi under hydroponic and soil-cultivated conditions[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 201: 105859

Chen XQ, Qiu LM, Liu QQ, He YX, 2024. Preparation and characterization of foliar adhesion nano-drug carrier system CS@HMS-EB[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 26(5): 892−900 (in Chinese) [陈秀琴, 邱良妙, 刘其全, 何玉仙, 2024. 叶面黏附纳米载药体系CS@HMS-EB的制备及性能研究[J]. 农药学学报, 26(5): 892−900]

Chen YX, Lin S, Tian HJ, Lin LH, Li H, Chen Y, Wei H, 2024. Preparation of methyl isonicotinate/α-cyclodextrin microcapsules and their attractant effect on thrips[J]. Journal of Plant Protection, 51(1): 193−202 (in Chinese) [陈艺欣, 林硕, 田厚军, 林凌鸿, 李恒, 陈勇, 魏辉, 2024. 异烟酸甲酯/α-环糊精微胶囊制备及其对蓟马的引诱效果分析[J]. 植物保护学报, 51(1): 193−202]

Deng WJ, Zhang YH, He LH, Xu L, Ye XL, Xu HH, Zhu L, Jia JL, 2024. Optimized nanopesticide delivery of thiamethoxam to cowpeas (*Vigna unguiculata*) controls thrips (*Megalurothrips usitatus*) and reduces toxicity to non-target worker bees (*Apis mellifera*)[J]. Science of the Total Environment, 954: 176327

Du Q, Wang TY, Chen L, Ding XQ, Cui B, Cui HX, Zeng ZH, 2023. Research progress on the advantages and environmental risks of nanopesticides[J]. Modern Agrochemicals, 22(2): 28−35 (in Chinese) [杜谦, 王听雨, 陈龙, 丁希权, 崔博, 崔海信, 曾章华, 2023. 纳米农药的优势与环境风险研究进展[J]. 现代农药, 22(2): 28−35]

Escaray F, Felipo-Benavent A, Vera P, 2022. Linking plant metabolism and immunity through methionine biosynthesis[J]. Molecular Plant, 15(1): 6−8

He LH, Xiao CX, Zhu L, Deng WJ, Zhang YH, Li Y, Wu XZ, Wu HX, Xu HH, Jia JL, 2024. GABA-decorated nanocarrier for smart delivery of fludioxonil for targeted control of banana wilt disease[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 72(48): 26664−26676

Li SJ, Yang J, Gao SX, Li XM, Wen Y, Liu YX, Qin YH, Wu XJ, Lu CT, Wang F, 2024. First report of basal stem rot caused by *Fusarium* species on Chinese yam in China[J]. Plant Disease, 108(8): 2561

Li XW, Chen YQ, Xu JN, Lynch I, Guo ZL, Xie CJ, Zhang P, 2023. Advanced nanopesticides: advantage and action mechanisms[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 203: 108051

Lin HC, Li SS, Ning LK, Ma N, Xu P, Hong M, Wang F, You CQ, 2023. Development of lignin-coated natural polysaccharide-based nanopesticides for both high foliar adhesion and rapid release of pesticide molecules against bacteriostasis[J]. Environmental Science: Nano, 10(11): 3197−3207

Liu F, Chen YC, Huang Y, Jin Q, Ji J, 2024. Nanomaterial-based therapeutics for enhanced antifungal therapy[J]. Journal of Materials Chemistry B, 12(37): 9173−9198

Liu L, Bao YW, Chen YF, Ding ML, Liang H, Li B, Qin XY, Zeng N, 2025. Anticancer effects and mechanisms of genus *Dioscorea*: a review[J]. Phytomedicine, 148: 157328

Luo J, Zhang DX, Jing TF, Liu G, Cao HC, Li BX, Hou YM, Liu F, 2020. Pyraclostrobin loaded lignin-modified nanocapsules: delivery efficiency enhancement in soil improved control efficacy on tomato *Fusarium* crown and root rot[J]. Chemical Engineering Journal, 394: 124854

Ma JN, Kang SY, Meng XL, Kang AN, Park JH, Park YK, Jung HW, 2018. Effects of rhizome extract of *Dioscorea batatas* and its active compound, allantoin, on the regulation of myoblast differentiation and mitochondrial biogenesis in C2C12 myotubes[J]. Molecules, 23(8): 2023

Rocha V, Carvalho D, das Neves J, 2025. Insights on nanomaterials-fungi interactions: probing engineering principles for developing antifungal nanomedicines[J]. International Journal of Pharmaceutics, 682: 125978

Shi WB, Huang CP, Chen YH, Guo XP, Xu JW, Guan X, Pan XH, 2024. Antimicrobial activity and mechanism of nano-$Cu(OH)_2$ against tea anthracnose pathogen[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 26(5): 962−973 (in Chinese) [石文波, 黄楚平, 陈宇航, 郭雪萍, 徐佳微, 关雄, 潘晓鸿, 2024. 纳米氢氧化铜对茶炭疽病菌的抑制活性及作用机制[J]. 农药学学报, 26(5): 962−973]

Slomberg DL, Ollivier P, Radakovitch O, Baran N, Sani-Kast N, Bruchet A, Scheringer M, Labille J, 2017. Insights into natural organic matter and pesticide characterisation and distribution in the Rhone River[J]. Environmental Chemistry, 14(1): 64−73

Tanaka T, Fujita M, Kusajima M, Narita F, Asami T, Maruyama-Nakashita A, Nakajima M, Nakashita H, 2024. Priming of immune system in tomato by treatment with low concentration of L-methionine[J]. International Journal of Molecular Sciences, 25(12): 6315

Wan MH, Hong T, He GX, Zhao YB, Sun L, 2023. Multifunctional hollow silica carriers with spiny structure for enhanced foliar adhesion and triple-responsive pesticide delivery[J]. Chemical Engineering Journal, 475: 146461

Wang G, Wan ZR, Shen DY, Dou DL, 2025. Identification of a biocontrol *Trichoderma* strain and its antagonistic activity against yam pathogens[J]. Plant Protection, 51(4): 354−362 (in Chinese) [王刚, 万郅睿, 沈丹宇, 窦道龙, 2025. 一株生防木霉的鉴定及对山药病原菌的拮抗作用[J]. 植物保护, 51(4): 354−362]

Wu CY, Shen X, Feng W, Li P, Chen Y, 2025. Agricultural nanotechnology[J]. Coordination Chemistry Reviews, 543: 216906

Wu HX, Chen ZB, Xiao CX, Lai D, Yao GK, Xu HH, 2021. Systemicity of fludioxonil derivatives with a carboxylic acid function and their control effect against *Fusarium* wilt of banana[J]. Journal of Plant Protection, 48(4): 789−797 (in Chinese) [吴瀚翔, 陈志彬, 肖春霞, 赖多, 姚光凯, 徐汉虹, 2021. 咯菌腈羧酸衍生物内吸传导性及对香蕉枯萎病的防效测定[J]. 植物保护学报, 48(4): 789−797]

Wu HX, Hu PT, Xu Y, Xiao CX, Chen ZB, Liu XJ, Jia JL, Xu HH, 2021. Phloem delivery of fludioxonil by plant amino acid transporter-mediated polysuccinimide nanocarriers for controlling *Fusarium* wilt in banana[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 69(9): 2668−2678

Wu J, Chang JZ, Liu J, Huang JJ, Song ZX, Xie XF, Wei LT, Xu JX, Huang SQ, Cheng DM, et al., 2023. Chitosan-based nanopesticides enhanced anti-fungal activity against strawberry anthracnose as "sugar-coated bombs"[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 253: 126947

Xia X, Dong JW, Li AJ, Wang YL, Liu Y, Zhu YF, Xu L, Jing ZY, Wang J, Zou Y, et al., 2025. Amino acid transporters mediate autonomous delivery of nanoparticle vehicles into living plants[J]. Nature Communications, 16: 6715

Xiao YX, Wei XH, Hu CY, Hsiang T, Yin JL, Li JK, 2024. Multiple amino acid transporters as carriers load L-valine-phenazine-1-carboxylic acid conjugate into *Ricinus* sieve tubes for the phloem translocation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 257: 128730

Xie HG, Yu GL, Wang XR, Chu DY, Song C, Wang P, Dai K, Li JZ, Yin H, 2024. Sea urchin-like nanocarrier for enhancing pesticide retention and rain fastness on hydrophobic and hydrophilic crop foliage[J]. Chemical Engineering Journal, 490: 151901

Xiong QY, Liang WL, Shang WX, Xie ZG, Cheng JL, Yu B, Fang Y, Sun L, Zhao JH, 2024. Bidirectional uptake, transfer, and transport of dextran-based nanoparticles in plants for multidimensional enhancement of pesticide utilization[J]. Small, 20(8): e2305693

Xu XL, Meng CL, Zhan JH, Wang Q, Zhang M, Wang CX, Pan JQ, Cui HX, Zhao X, 2026. Nanoparticle-plant interactions: uptake, transport, physiological effects, and environmental implications[J]. Journal of Hazardous Materials Advances, 22: 101123

Yan S, Jiang QH, Shen J, 2022. Current state of research in synergistic mechanisms of nanopesticides and their carriers[J]. Journal of Plant Protection, 49(1): 366−373 (in Chinese) [闫硕, 蒋沁宏, 沈杰, 2022. 纳米农药及载体材料的增效机理研究现状[J]. 植物保护学报, 49(1): 366−373]

Yang GZ, Wei QX, Huang H, Xia JX, 2020. Amino acid transporters in plant cells: a brief review[J]. Plants, 9(8): 967

Yang LP, Chen HY, Zhu SQ, Zhao SJ, Huang SQ, Cheng DM, Xu HH, Zhang ZX, 2024. Pectin-coated iron-based metal-organic framework nanoparticles for enhanced foliar adhesion and targeted delivery of fungicides[J]. ACS Nano, 18(8): 6533−6549

Zeng R, Fang WS, Sun Y, Hua JL, Cao AC, Li XS, 2023. Efficacy of fumigation with DMDS and CP against soil-borne diseases of yam and its biosafety evaluation[J]. Plant Protection, 49(2): 184−191 (in Chinese) [曾荣, 方文生, 孙杨, 华菊玲, 曹坳程, 李信申, 2023. 二甲基二硫与氯化苦联合熏蒸防治山药土传病害效果及生物安全性评价[J]. 植物保护, 49(2): 184−191]

Zhang F, Wang Q, Bai SY, Shang H, Sun JH, 2019. Preparation and evaluation of boscalid nanopesticide based on mesoporous silica[J]. Journal of Plant Protection, 46(6): 1335−1342 (in Chinese) [张芳, 王琪, 白诗扬, 尚慧, 孙继红, 2019. 基于氧化硅介孔材料的啶酰菌胺纳米农药制备及其性能评价[J]. 植物保护学报, 46(6): 1335−1342]

Zhang XH, Xiao JH, Huang YQ, Liu YL, Hu GH, Yan WY, Yan GY, Guo Q, Shi JW, Han RY, et al., 2025. Sustainable pest management using plant secondary metabolites regulated azadirachtin nano-assemblies[J]. Nature Communications, 16: 1721

（责任编辑：张俊芳）