



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107660559 A

(43)申请公布日 2018.02.06

(21)申请号 201610601968.9

A01P 3/00(2006.01)

(22)申请日 2016.07.27

(71)申请人 四川利尔作物科学有限公司

地址 621000 四川省绵阳市涪城区丰谷镇
双拥路77号

(72)发明人 梁灵 侯燕华 殷勇 左元明

杨晓清 白珂珂 王兴伍 邱丰

(74)专利代理机构 北京恩赫律师事务所 11469

代理人 刘守宪

(51)Int.Cl.

A01N 65/30(2009.01)

A01N 63/00(2006.01)

A01N 35/06(2006.01)

A01N 31/16(2006.01)

A01P 1/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书14页

(54)发明名称

农药组合物及其应用

(57)摘要

本发明公开了一种农药组合物及其应用,涉及农药复配技术领域。所述组合物来源于蓼科虎杖,所述组合物的提取工艺步骤包括:1)提取:将虎杖根茎粉碎到一定粒度,采用提取溶剂对虎杖进行提取得到虎杖提取物;2)处理:将步骤1)中的虎杖粗提物用酸水解、酶解或微生物发酵转化处理;3)将处理后的虎杖粗提物中的溶剂进行部分或完全去除,即得所述农药组合物。本发明的发明人经过研究发现,通过酸水解、酶解或微生物发酵转化将糖配体转化为非糖配体获得的组合物的成分变的简单,保障了组合物中各组分的稳定性,提高了虎杖提取物的利用率。

1. 一种农药组合物,其特征在于,所述组合物来源于蓼科虎杖,所述组合物的制备工艺步骤包括:

- 1)提取:将虎杖根茎粉碎到一定粒度,采用提取溶剂对虎杖进行提取得到虎杖提取物;
- 2)处理:将步骤1)中的虎杖粗提物用酸水解、酶解或微生物发酵转化处理;
- 3)将处理后的虎杖粗提物中的溶剂进行部分或完全去除,即得所述农药组合物。

2. 根据权利要求1所述的农药组合物,其特征在于,所述处理步骤中:用于酸水解的酸为盐酸、硫酸、磷酸、碳酸、次氯酸、高氯酸、硝酸、柠檬酸、醋酸中的一种或多种;用于酶解的酶为纤维素酶、植物提取复合酶、淀粉酶、果胶酶、 β -葡萄糖苷酶中的一种或多种;用于微生物发酵转化的菌为酵母菌、黑曲霉、内生真菌中的一种或多种。

3. 根据权利要求1所述的农药组合物,其特征在于,用于提取虎杖的溶剂为水或有机溶剂的一种或两种。

4. 根据权利要求3所述的农药组合物,其特征在于,所述有机溶剂为醇类溶剂、酮类溶剂、酯类溶剂、氯仿、四氯化碳及C5~C20直链或支链烃类溶剂的一种或多种。

5. 根据权利要求1至4任一所述的农药组合物,其特征在于,所述杀菌组合物中还含有农药制剂辅助成分,所述农药组合物的含量为0.01%~90%,以制成适合农业上使用的剂型。

6. 根据权利要求5所述的农药组合物,其特征在于,所述农药制剂辅助成分为农业上可接受的载体和助剂;所述杀菌组合物的剂型是可溶液剂、水剂、水悬浮剂、干悬浮剂、油悬浮剂、可湿性粉剂、水分散粒剂、乳油、微乳剂中、悬浮种衣剂。

7. 权利要求1至6任一所述的杀菌组合物在制备防治植物病害的农药制剂中的应用。

8. 根据权利要求7所述的农药组合物的应用,其特征在于,在制备防治白粉病、霜霉病、灰霉病、早疫病、黑星病、锈病、斑点落叶病、稻瘟病、腐烂病、轮纹病、枯萎病、炭疽病、菌核病;细菌性病害包括细菌性角斑病、溃疡病、青枯病、细菌性条斑病;病毒病害包括如烟草花叶病毒病、番茄病毒病的农药制剂中的应用。

农药组合物及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种农药组合物及其应用,特别是指一种虎杖经过提取、处理后获得的一种农药组合物及其应用,属于农药技术领域。

背景技术

[0002] 随着全球对资源和环境的广泛关注,可持续发展战略成为世界各国共同响应和认同的主题,“有机农业”,“绿色食品”已成为农业发展的方向,而寻找开发高效、低毒、低残留与环境和谐的生物源农药已逐步成为农药研究的新方向。目前利用天然次生代谢产物的植物源农药的开发应用是创制生物农药的重要方向和研究热点。而实际生产中往往存在提取资源来源受限、活性效果不稳定等问题。

[0003] 蓼科植物虎杖的根茎,其主要成分为蒽醌类(如大黄素)、芪类化合物(如白藜芦醇)、黄酮类化合物、游离氨基酸、酚性物质、多糖等。虎杖提取物中的天然蒽醌类化合物可用于植物病害的防治,中国专利申请201080044771.0公开了一种含蒽醌衍生物的制剂,中国专利申请201010103826.2公开了一种用于防治植物病毒病的组合物及其应用。以上所述组合物获得的方式通常为:虎杖根茎粉碎后用一定浓度及比例的有机溶剂在机械搅拌并加热回流或浸泡超声条件下获得。该方法获得的组合物成分复杂,包括诸如大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素、白藜芦醇、大黄素甲醚、大黄素配体糖、大黄素甲醚配体糖、大黄酚配体糖、白藜芦醇苷、鞣质及多种多糖等。

[0004] 但目前,将虎杖提取物用于防治植物病害的组合物仍有较多的提升空间,其药效能力仍需改进。

发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是提供一种组分相对简单,药效可控,杀菌效果好的杀菌组合物及其应用。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明提供技术方案如下:

[0007] 本发明的一种农药组合物,所述组合物来源于蓼科虎杖,所述组合物的制备工艺步骤包括:

[0008] 1)提取:将虎杖根茎粉碎到一定粒度,采用提取溶剂对虎杖进行提取得到虎杖粗提物;

[0009] 2)处理:将步骤1)中的虎杖粗提物用酸水解、酶解或微生物发酵转化处理;

[0010] 3)将处理后的虎杖粗提物中的溶剂进行部分或完全去除,即得所述农药组合物。

[0011] 本发明是通过使用水或有机溶剂对虎杖中的有效成分进行提取,其中的有效成分包括大黄素甲醚、大黄素、白藜芦醇等物质,提取方法可采用现有技术中常用的提取方法;另一方面,本发明通过酸水解、酶解、微生物发酵等方法进行处理,将虎杖中的糖配体转化为非糖配体,如白藜芦醇苷转化为白藜芦醇,使虎杖粗提物的组分变的相对简单,本发明的处理方法,包括酸水解、酶解、微生物发酵等可采用现有技术中的成熟工艺进行处理。

[0012] 上述组合物的制备工艺中,虎杖可以粉碎到5~200目,提取工艺优选为多次反复提取,一般用溶剂提取3次,使虎杖粗提物得到充分提取。

[0013] 上述组合物的制备工艺中,用于酸水解的酸的添加量、用于酶解的酶的添加量可依据酸的水解特性、酶的活性等以本领域技术人员的常规经验可以获知,用于微生物发酵的微生物的培养及发酵条件也需根据微生物的特性以本领域技术人员的常规经验可以获知。

[0014] 本发明所述组合物来源于蓼科植物虎杖,所采用的提取方式是:将虎杖根茎粉碎到一定粒度后,先经过微生物发酵或酸、酶水解,将虎杖中糖配体转化为非糖配体,再采用常用提取溶剂进行提取,提高了虎杖提取物的利用效率。所述组合物可以以液体形式使用,也可以进一步以固体形式存在,所述组合物中的物质主要以其非糖配体的形式存在,应用于植物病害防治具有更高的生物活性。所述处理步骤中:用于酸水解的酸为盐酸、硫酸、磷酸、硝酸、碳酸、次氯酸、高氯酸、柠檬酸、醋酸的一种或多种;用于酶解的酶为纤维素酶、植物提取复合酶、淀粉酶、果胶酶、 β -葡萄糖苷酶的一种或多种;用于微生物发酵转化的菌为酵母菌、黑曲霉、内生真菌的一种或多种。

[0015] 进一步地,用于提取虎杖粗提物的溶剂为水或有机溶剂的一种或两种,所述有机溶剂为醇类溶剂、酮类溶剂、酯类溶剂、氯仿、四氯化碳及C5~C20直链或支链烃类溶剂的一种或多种。

[0016] 进一步地,所述醇类溶剂是甲醇、乙醇、异丁醇、正丁醇、正己醇、正辛醇中一种或多种;所述酮类溶剂为丙酮;;所述酯类溶剂为乙酸乙酯、醋酸丁酯;所述C5~C20直链或支链烃类溶剂为苯、正己烷、或石油醚一种或多种。

[0017] 本发明的杀菌组合物中还可以含有农药制剂辅助成分,所述农药组合物的含量为0.01%~90%,可以制成适合农业上使用的剂型,所述杀菌组合物的剂型是悬浮剂、干悬浮剂、油悬浮剂、水分散粒剂、可湿性粉剂或悬浮种衣剂。

[0018] 本发明的杀菌组合物可以用已知的方法制备成适合农业使用的任意一种剂型,比较好的剂型为干悬浮剂(DF)、油悬浮剂、水乳剂、微乳剂、可湿性粉剂(WP)、水分散粒剂(WDG)、悬浮剂(SC)、种子处理剂或悬浮种衣剂等。

[0019] A可湿性粉剂(WP),是在水中可均匀分散的固体粉末制剂。本发明可湿性粉剂除了向原药中加如白炭黑、轻质碳酸钙、陶土、硅藻土、凹凸棒土等稀释剂或惰性物质外,还有离子型或非离子型表面活性剂(润湿剂、分散剂),润湿剂例如,烷基苯磺酸盐(DBS-Na),烷基萘磺酸盐(拉开粉),烷基酚聚氧乙烯基醚硫酸盐,烷基酚聚氧乙烯基醚甲醛缩合物硫酸盐,脂肪醇硫酸盐,脂肪醇环氧乙烷加成物磺酸盐,烷酰胺基牛磺酸盐,脂肪醇聚氧乙烯基醚(JFC),含量0.1~30%;分散剂如萘磺酸盐,萘或烷基萘甲醛缩合物磺酸盐(NO、NN0、MF),木质素及其衍生物磺酸盐(M-9、POLYFON等),聚氧乙烯聚氧丙烯醚嵌段共聚物,烷基酚聚氧乙烯基醚甲醛缩合物硫酸盐(SOPA),PVA、CMC含量0.1~30%;还含有渗透剂JFC、氮酮、噻酮、渗透剂T之中的一种或多种物质,含量0.3~30%;还可以含有稳定剂、抑泡剂、防结块剂等其它助剂。

[0020] B水分散粒剂(WDG),是能在水中较快崩解、分散形成高悬浮分散体系的颗粒剂。由活性成分,润湿剂、分散剂、隔离剂、崩解剂、稳定剂、黏结剂等助剂和载体等要素组成。其助剂与载体,以及前体(造粒前的预制物)的配制方法基本类同于可湿性粉剂和悬浮剂。

[0021] C悬浮剂(SC),是不水溶固体农药或不混溶液体农药在水或油中的分散体。由活性成分、助剂(润湿分散剂、增稠剂、稳定剂、pH调节剂、消泡剂、防冻剂)经湿法超微粉碎制得。润湿分散剂可以为萘或烷基萘甲醛缩合物磺酸盐(NO、NNO、MF)、木质素及其衍生物磺酸盐(M-9、POLYFON等)、烷基酚聚氧乙烯基醚磺酸盐、聚氧乙烯聚氧丙烯基醚嵌段共聚物,烷基酚聚氧乙烯基磷酸酯、羧甲基纤维素(CMC)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙二醇(PEG)、缩合磷酸盐等中的一种或几种,含量0.1~12%;增稠剂和稳定剂可以为黄原酸胶(XG)、聚乙烯醇(PVA)、硅酸铝镁等中的一种或几种,含量0.05~0.5%;pH调节剂和消泡剂可视情况适量添加。

[0022] D干悬浮剂(Dry Flowable,简称DF),是能在水中较快崩解、分散形成高悬浮分散体系的颗粒剂。制备方法:由悬浮剂的脱水得到的制剂。其助剂与载体,以及前体(脱水干燥前的预制品)的配制方法与悬浮剂一致。

[0023] 本发明所述的杀菌组合物适用于制备防治植物病害的农药制剂。特别适用于制备防治白粉病、霜霉病、灰霉病、早疫病、黑星病、锈病、斑点落叶病、腐烂病、稻瘟病、轮纹病、枯萎病、炭疽病、菌核病等;细菌性病害细菌性角斑病、溃疡病、青枯病等;病毒病害如烟草花叶病毒病、番茄病毒病的农药制剂中的应用。

[0024] 本发明的有益效果在于:

[0025] (1)本本发明的发明人经过研究发现,通过酸水解、酶解或微生物发酵转化将糖配体转化为非糖配体获得的组合物的成分变的简单,使提取组分的比例、纯度等实现一定的稳定控制,保障了组合物中各组分的稳定性,而且最终获得组合物杀菌效果变的更好;

[0026] (2)蓼科植物虎杖经过酸水解、酶解或微生物发酵转化处理后的组合物用于防止植物病害,其组分均来源于天然植物,在自然界中易降解、无污染,对人和牲畜安全,具有低毒、低残留的特点,符合现代生物农药的发展方向,对发展绿色农业,促进农业生产的可持续发展具有重要的经济、社会和环境效益;

[0027] (3)所述组合物用于农业生产中的农药使用,提高了虎杖的资源利用率,降低了生产成本,实现了资源的充分利用。

具体实施方式

[0028] 为使本发明要解决的技术问题、技术方案和优点更加清楚,下面将用具体实施例进行详细描述,但本发明绝非限于这些例子。以下所述仅为本发明较好的实施例,仅仅用以解释本发明,并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,凡在本发明的精神和原则之内所做的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

[0029] 实施例1:

[0030] (1)粉碎:将虎杖原料粉碎至8-10目,备用;

[0031] (2)提取:取粉碎后的虎杖,加入乙酸乙酯,每公斤所述虎杖中加入的乙酸乙酯为4公斤,在50℃条件下进行提取三次,每次1小时,得提取液,在所述提取过程中,通过连续逆流螺旋提取器提取,合并提取液;

[0032] (3)酶解:将提取液减压浓缩,回收溶剂,再加入2倍量的水于浓缩液中,在35℃条件下与水解生物酶发酵48h,每1kg所述虎杖粉末中加入水解生物酶3.5g;

- [0033] (4)浓缩干燥:将经发酵后的虎杖提取物经浓缩干燥得到虎杖提取组合物;
- [0034] 实施例2:
- [0035] (1)粉碎:将虎杖原料粉碎至8-10目,备用;
- [0036] (2)提取:将粉碎后的原料用原料重量6倍量的80%的乙醇提取3次,温度为75℃,前两次提取时间为2h,第三次1h,合并提取液;
- [0037] (3)浓缩:将提取液减压浓缩,回收乙醇,得浓缩液;
- [0038] (4)酸解:在浓缩液中加入2倍量的水,并加入稀盐酸催化反应5h,酸的添加量为:每1kg浓缩液中加入酸的量为15g,酸解的温度控制在60-65℃;;
- [0039] (5)将经过酸处理的虎杖提取物浓缩干燥得虎杖提取组合物;
- [0040] 实施例3:
- [0041] (1)粉碎:将虎杖原料粉碎至8-10目,备用;
- [0042] (2)加入4倍量的乙酸乙酯50℃条件下萃取提取三次,每次1小时,得提取液;
- [0043] (3)将提取液减压浓缩回收溶剂,再加入2倍量的水,加入菌龄为40h的黑曲霉1.5%,35℃发酵56小时,得发酵液;
- [0044] (4)浓缩干燥:将经黑曲霉处理的提取液减压浓缩、干燥,得虎杖提取组合物;
- [0045] 实施例4:
- [0046] (1)前处理:将干燥虎杖粉碎到60-80目;
- [0047] (2)提取:将经干燥粉碎后的虎杖用8倍量的丙酮浸提并搅拌6h,温度为45℃;
- [0048] (3)将经2)处理后的提取液减压浓缩,得虎杖提取物浓缩液;
- [0049] (4)在浓缩液中加入2倍量的水,加入原料重量的0.2%的纤维素酶和0.1%果胶酶在45℃搅拌发酵6h得发酵液;
- [0050] (5)浓缩干燥:将经4)处理的虎杖提取物经减压干燥得到虎杖提取组合物;
- [0051] 实施例5:
- [0052] (1)前处理:将干燥虎杖粉碎到60-80目;
- [0053] (2)提取:将经干燥粉碎后的虎杖用5倍量的二氯甲烷浸提并搅拌6h,温度为30℃;
- [0054] (3)将经2)处理后的提取液减压浓缩,回收溶剂,得虎杖提取物浓缩液;
- [0055] (4)在浓缩液中加入2倍量的水,加入原料重量5%的稀盐酸催化反应5h;
- [0056] (5)浓缩干燥:将经4)处理的虎杖提取物经减压干燥得到虎杖提取组合物。
- [0057] 实施例6:
- [0058] (1)粉碎:将虎杖原料粉碎至8-10目,备用;
- [0059] (2)提取:取粉碎后的虎杖,加入乙酸乙酯,每公斤所述虎杖中加入的乙酸乙酯为4公斤,在50℃条件下进行提取三次,每次1小时,得提取液,在所述提取过程中,通过连续式逆流螺旋提取器提取,合并提取液;
- [0060] (3)酶解:将提取液减压浓缩,回收溶剂,再加入2倍量的水于浓缩液中,在35℃条件下与水解生物酶发酵48h,每1kg所述虎杖粉末中加入水解生物酶3.5g;
- [0061] (4)过滤、浓缩:将经过3)处理的提取液过滤、浓缩干燥得粗提物固体,再用饱和异丁醇溶解并过滤,得滤液;
- [0062] (5)将4)所得滤液用聚酰胺树脂进行吸附,吸附完成后收集流出液,再用70%甲醇对吸附树脂进行洗脱,收集洗脱液,洗脱液经浓缩干燥即得白藜芦醇粗品,含量为75.8%;

[0063] (6)将5)中的流出液经浓缩干燥并与4)中滤饼经干燥粉碎得虎杖提取组合物成品(其中白藜芦醇残余含量为1.6%)。

[0064] 实施例7:

[0065] (1)粉碎:将虎杖原料粉碎至8-10目,备用;

[0066] (2)提取:将粉碎后的原料用原料重量6倍量的80%的乙醇提取3次,温度为75℃,前两次提取时间为2h,第三次1h,合并提取液;

[0067] (3)浓缩:将提取液减压浓缩,回收乙醇,得浓缩液;

[0068] (4)酸解:在浓缩液中加入2倍量的水,并加入稀盐酸催化反应5h,酸的添加量为:每1kg浓缩液中加入酸的量为15g,酸解的温度控制在60-65℃;

[0069] (5)萃取:用4倍量乙酸乙酯萃取经4)处理的提取物;

[0070] (6)一次浓缩:将乙酸乙酯萃取液在70℃条件下减压浓缩并过滤,回收乙酸乙酯,得浸膏;

[0071] (7)二次浓缩:在一次浓缩后的浸膏中加入60%的甲醇进行溶解,再进行过滤,收集滤出物,取滤液进行浓缩,回收滤液中的甲醇,静置后通过板框过滤得沉淀,沉淀经干燥粉碎得白藜芦醇成品,含量为91.2%;

[0072] (8)所述板框过滤后,白藜芦醇基本实现完全分离,得到的滤液合并5)中萃余液在60℃条件下进行浓缩,合并7)中滤出物经干燥、粉碎后得虎杖提取组合物成品,(其中白藜芦醇残余含量为0.63%)

[0073] 实施例8:

[0074] (1)粉碎:将虎杖原料粉碎至8-10目,备用;

[0075] (2)提取:加入4倍量的乙酸乙酯50℃条件下萃取提取三次,每次1小时,得提取液;

[0076] (3)微生物发酵:将提取液减压浓缩回收溶剂,再加入2倍量的水,加入菌龄为40h的黑曲霉1.5%,35℃发酵56小时,得发酵液;

[0077] (4)过滤、浓缩:将发酵液过滤、浓缩干燥得粗提物固体,再用饱和异丁醇溶解并过滤,得滤液;

[0078] (5)将4)所得滤液用聚酰胺树脂进行吸附,吸附完成后收集流出液,再用70%甲醇对吸附树脂进行洗脱,收集洗脱液,洗脱液经浓缩干燥即得白藜芦醇粗品,含量为86.3%;

[0079] (6)将5)中的流出液经浓缩干燥并与4)中滤饼经干燥粉碎得虎杖提取组合物成品(其中白藜芦醇残余含量为1.8%)。

[0080] 对比例1:

[0081] (1)前处理:将干燥虎杖粉碎到60-80目;

[0082] (2)提取:将粉碎后的原料用原料重量8倍量的80%的乙醇提取3次,温度为80℃;

[0083] (3)浓缩干燥:将提取液浓缩干燥得虎杖提取物;

[0084] 对比例2:

[0085] 市售虎杖提取物(南京泽朗生物科技有限公司,25kg/桶)。

[0086] 通过上述实施例获得的农药组合物,可通过添加常规的农业上可接受的载体和助剂制备成农业上可用的剂型,部分实施例如下:

[0087] 实施例9:5%可溶液剂

[0088] 按重量计取实施例1组合物5份,溶于10份丙二醇单甲醚,再加入8蓖麻油聚氧乙烯

醚,77份水混合均匀并搅拌,即得5%可溶液剂。

[0089] 实施例10:5%水剂

[0090] 按重量计取实施例2组合物5份,溶于10份乙醇,5份苯乙基酚聚氧乙烯醚,80份水混合均匀并搅拌,即得5%水剂。

[0091] 实施例11:5%微乳剂

[0092] 按重量计取实施例3组合物5份,6份N-甲基吡咯烷酮,2份环己酮,10份甲醇,8份十二烷基苯磺酸盐,69份水混合并搅拌均匀,即得5%微乳剂。

[0093] 实施例12:10%油悬浮剂

[0094] 按重量计取实施例4组合物10份,6份脂肪醇聚氧乙烯醚,6蓖麻油聚氧乙烯醚,2份有机膨润土,66油酸甲酯混合,均匀并搅拌,砂磨即得10%油悬浮剂。

[0095] 实施例13:20%水悬浮剂

[0096] 按重量计取实施例5组合物20份,3份烷基酚聚氧乙烯醚磺酸盐,3份丙烯酸-丙烯酸羟丙酯共聚物,0.2份黄原胶,0.5份苯甲酸钠,5份乙二醇,74.3份水混合,砂磨即得20%水悬浮剂。

[0097] 实施例14:30%乳油

[0098] 按重量计取实施例1组合物30份,8份苯乙基酚聚氧乙烯醚,4份十二烷基苯磺酸盐,58份二甲苯,混合溶解并搅拌均匀,即得30%乳油。

[0099] 实施例15:70%水分散粒剂

[0100] 按重量计取实施例3组合物70份,5份十二烷基磺酸盐甲醛缩合,4份烷基苯甲酸钠,4份性木质素,17份高岭土混合,机械粉碎后再经气流粉碎,混合均匀后经造粒并烘干得70%水分散粒剂。

[0101] 实施例16:85%可湿性粉剂

[0102] 按重量计取实施例5组合物85份,4份十二烷基苯甲酸钠,4份聚氧乙烯醚甲醛缩合物,7份白炭黑混合,经机械粉碎再经气流粉碎得85%可湿性粉剂。

[0103] 试验实施例1:本发明组合物离体抑菌活性检测

[0104] 将供试靶标菌番茄灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)、黄瓜炭疽病菌(*Colletotrichum orbiculare*)、苹果斑点落叶病菌(*Alternaria alternaria*)、油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、香蕉黑星病菌(*Macrophoma musae*)、稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)等18种病原菌接在PDA平板上,置于25±1℃培养箱中预培养5d。

[0105] 将实施例对比例所获组合物配制成的5%可溶液剂,分别称取制剂4g,使用无菌水定容至200mL。然后将PDA培养基溶化,按药液与PDA培养基1:9混合均匀(v/v)制成稀释倍数为500倍的带毒平板。然后用直径为5mm的打孔器在靠近菌落边缘的同一圆周上打取菌饼(保证同一重复的供试病菌的菌龄相同),并用接种针在无菌条件下将菌饼接种到带毒培养基平板中央,菌丝面朝下,并设不加药平板作对照,置于黑暗下培养,每处理重复3次测定。

[0106] 待空白对照菌饼长到平板菌落边缘时,记录各浓度处理菌落直径,计算药剂对靶标菌的抑制率。抑菌率%=(空白菌落直径-处理菌落直径)/(空白菌落直径-菌饼直径)×100。

[0107] 结果证明实施例1-3、6-8及对比例1、2所获组合物5%可溶液剂对18种靶标菌均有一定的抑菌活性,同时实施例1-3、6-8所述组合物活性明显优于对比例1-2组合物。即经醇

解所获杀菌组合物活性远优于未经醇解所述组合物抑菌活性。提取白藜芦醇工艺所获组合物活性效果优于未提取白藜芦醇所获组合物活性。

[0108] 表1本发明所获组合物离体抑菌活性

病原菌	抑制率							
	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 6	实施例 7	实施例 8	对比例 1	对比例 2
辣椒疫霉 (Phytophthora capsici)	62.08%	60.40%	63.01%	76.41%	74.33%	77.56%	35.95%	34.67%

[0110]

荔枝霜疫霉 (<i>Peronophthora litchii</i>)	79.38%	78.99%	79.31%	97.76%	97.28%	97.68%	50.71%	49.34%
烟草疫霉 (<i>Phytophthora parasitica</i>)	78.40%	77.85%	78.93%	96.55%	95.88%	97.21%	43.91%	42.43%
葡萄炭疽病菌 (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	71.28%	72.10%	71.19%	87.77%	88.78%	87.65%	39.40%	38.78%
番茄早疫病菌 (<i>Alternaria solani</i>)	61.56%	62.92%	63.99%	75.77%	77.44%	78.76%	35.90%	34.57%
黄瓜炭疽病菌 (<i>Colletotrichum orbiculare</i>)	69.58%	68.41%	71.64%	85.67%	84.22%	88.21%	40.21%	39.78%
苹果斑点落叶病菌 (<i>Alternaria alternaria</i>)	66.76%	66.16%	68.21%	82.18%	81.44%	83.97%	41.65%	40.23%
苹果轮纹病菌 (<i>Physalospora piricola</i>)	67.49%	67.60%	71.11%	83.09%	83.22%	87.56%	36.33%	34.45%
苹果腐烂病菌 (<i>Valsa mali</i>)	52.29%	53.05%	55.58%	64.32%	65.26%	68.38%	26.38%	21.67%
花生褐斑病菌 (<i>Cercospora arachidicola</i>)	56.98%	57.98%	58.57%	70.11%	71.34%	72.07%	27.58%	26.45%
小麦纹枯病菌 (<i>Rhizotonia cerealis</i>)	78.49%	78.36%	80.28%	96.66%	96.50%	98.88%	49.14%	45.23%
小麦根腐病菌 (<i>Cochliobolus sativas</i>)	58.87%	59.69%	61.72%	72.44%	73.46%	75.96%	36.56%	34.16%

[0111]	油菜菌核病菌 (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)	73.90%	74.17%	76.02%	91.00%	91.33%	93.62%	66.86%	63.34%
	香蕉黑星病菌 (<i>Macrophoma musae</i>)	64.18%	63.55%	66.77%	79.00%	78.22%	82.20%	52.05%	48.12%
	番茄灰霉病菌 (<i>Botrytis cinerea</i>)	69.39%	69.67%	70.92%	85.43%	85.78%	87.32%	37.43%	33.55%
	棉花枯萎病菌 (<i>Fusarium oxysporum</i>)	57.88%	57.07%	59.85%	71.22%	70.22%	73.65%	41.05%	41.19%
	西瓜枯萎病菌 (<i>Fusarium oxysporum</i>)	58.61%	60.17%	61.02%	72.12%	74.05%	75.10%	44.95%	43.34%
	稻瘟病菌 (<i>Magnaporthe grisea</i>)	63.63%	66.96%	68.21%	78.32%	82.43%	83.97%	35.43%	33.46%

[0112] 本发明的发明人研究发现,本发明制备的农药组合物的抑菌活性,与剂型的选择没有太大差异,通过反复实验发现,本发明的农药组合物对病原菌的抑制活性远远大于对比例组合物的抑菌活性。

[0113] 试验实施例2:本发明组合物对黄瓜白粉病盆栽试验

[0114] 试验采用中华人民共和国农业行业标准NY/T 1156.11-2008防治瓜类白粉病试验方法。将黄瓜感病品种津优1号浸种催芽后播种,温室20~25℃培育黄瓜出土至2~3叶期备用。将实施例1至实施例5、对比例1及对比例2所获组合物配制成的5%水剂配制稀释倍数为500倍液的药液200ml备用,使用生测喷雾塔将药液均匀喷施于叶面至全部润湿,每处理5盆,4次重复,并设只含溶剂和表面活性剂而不含有效成分的处理作空白对照。药剂处理24小时后,用喷雾器在黄瓜叶片上均匀喷雾接种黄瓜白粉病菌孢子悬浮液。

[0115] 孢子悬浮液的配置方法:用加入少量吐温80的纯净水,将长满白粉病菌植物叶片上的新鲜孢子洗脱下来,用双层纱布过滤,制成 1×10^5 个孢子/mL的悬浮液。每处理喷施100ml孢子悬浮液,将接种后的黄瓜植株放置在温度20℃~25℃的条件下培养。

[0116] 待空白对照病叶率达到50%以上时,分级调查各处理发病情况,调查每片真叶病级指数。分级标准为:

[0117] 0级:无病;

[0118] 1级:病斑面积占整片叶面积的5%以下;

[0119] 3级:病斑面积占整片叶面积的5%~25%;

[0120] 5级:病斑面积占整片叶面积的25%~50%以下;

[0121] 7级:病斑面积占整片叶面积的50%~75%以下;

[0122] 9级:病斑面积占整片叶面积的75%以上;

[0123] 根据调查数据结果,统计各处理的病情指数和防治效果。

[0124] 按公式(1)、公式(2)计算各处理病情指数及防效,结果保留小数点后两位。

$$[0125] \quad X = \frac{\sum (N_i \times i)}{N \times 11} \times 100 \dots \dots \dots \text{公式 (1)}$$

[0126] 式中:X——病情指数;

[0127] Ni——各级病叶数;

[0128] i——相对级数值;

[0129] N——调查总叶数。

$$[0130] \quad P = \frac{CK - PT}{CK} \times 100 \dots \dots \dots \text{公式 (2)}$$

[0131] 式中:

[0132] P——防治效果,单位为百分数(%);

[0133] CK——空白对照病情指数;

[0134] PT——药剂处理病情指数。

[0135] 由结果可知,以实施例1至实施例8所述组合物对黄瓜白粉病活性较好。

[0136] 实施例1至实施例8所述组合物活性效果均优于对比例1及对比例2所述组合物活性效果。

[0137] 表2本发明所获组合物对黄瓜白粉病盆栽活性效果

[0138]

处理		病情指数 (%)					平均防效 (%)
		②	②	③	④	平均	
实施例1 5%水剂	200 倍稀释液	15.35	15.58	15.62	15.51	15.52	75.69

[0139]

实施例 2 5%水剂	200 倍稀释液	16.25	16.75	15.83	16.73	16.39	74.32
实施例 3 5%水剂	200 倍稀释液	15.55	15.01	15.62	15.84	15.51	75.70
实施例 4 5%水剂	200 倍稀释液	14.47	14.41	13.8	14.53	14.30	77.59
实施例 5 5%水剂	200 倍稀释液	14.5	15.63	14.22	14.88	14.81	76.80
实施例 6 5%水剂	200 倍稀释液	9.99	9.45	10.06	10.28	9.95	84.42
实施例 7 5%水剂	200 倍稀释液	8.91	8.85	8.62	8.97	8.84	86.15
实施例 8 5%水剂	200 倍稀释液	8.94	8.07	8.66	9.32	8.75	86.29
对比例 1 5%水剂	200 倍稀释液	35.54	36.34	35.24	34.14	35.32	44.66
对比例 2 5%水剂	200 倍稀释液	37.24	36.14	36.24	35.54	36.29	43.13
清水对照 CK		64.94	62.54	63.44	64.34	63.82	-

[0140] 试验实施例3:本发明组合物对黄瓜白粉病田间药效试验

[0141] 试验药剂:本发明所获组合物20%水悬浮剂,对照药剂:25%三唑酮可湿性粉剂。

[0142] 试验地点和品种:本试验设在绵阳市涪城区丰谷镇回龙沟村日光温室黄瓜田中。供试品种为津优1号,试验时黄瓜处于采收初期,黄瓜白粉病零星开始发病。

[0143] 试验设计与方法:试验共设20%组合物水悬浮剂300倍液、500倍液、700倍液共三个浓度,以25%三唑酮1000倍液作为对照药剂,另设空白对照。随机区组排列,重复3次,小区面积15m²,试验与2016年5月6日用背负式喷雾器常规喷雾,亩用水量60kg,并于第1次施药后7天,即5月13日重施1次。每小区定点调查20株,记载每株中上部10个叶片的病级指数,并计算防治效果。

[0144] 黄瓜白粉病分级指数为:

[0145] 0级:无病;

[0146] 1级:病斑面积占整片叶面积的5%以下;

[0147] 3级:病斑面积占整片叶面积的5%~25%;

[0148] 5级:病斑面积占整片叶面积的25%~50%以下;

[0149] 7级:病斑面积占整片叶面积的50%~75%以下;

[0150] 9级:病斑面积占整片叶面积的75%以上;

[0151] 病情指数(%)=[(各级病叶数×相对级数值)/(调查总叶数×9)]×100

[0152] 防治效果(%)=[1-(CK₀病指数×P_{t1}病指数)/(CK₁病指数×P_{t0}病指数)]×100

[0153] 有结果可知,本发明组合物对黄瓜白粉病具有优异的防治作用,优于对照药剂三

唑酮。实施例2及实施例5-8所获组合物防治作用明显优于对比例1及对比例2所获组合物防治效果。药剂对黄瓜生长安全,无药害,可用于田间黄瓜白粉病的防治。

[0154] 表3本发明所获组合物20%水悬浮剂对黄瓜白粉病田间防效

[0155]

编号	药剂	药剂浓度	施药前病情指数	第1次药后7天病情指数	第2次药后7天病情指数	第1次药后7天防效%	第2次药后7天防效%
1	实施例2 20%悬浮剂	700 倍液	7.51	10.94	21.42	72.82	71.95
2		500 倍液	7.52	7.77	15.99	80.72	79.09
3		300 倍液	7.35	7.25	14.58	81.59	80.49
4	实施例5 20%悬浮剂	700 倍液	7.18	10.95	21.34	71.54	70.77
5		500 倍液	7.35	7.67	15.10	80.53	79.80
6		300 倍液	7.4	6.73	13.56	83.03	81.98
7	实施例6 20%悬浮剂	500 倍液	7.23	5.67	13.64	85.36	81.45
8	实施例7 20%悬浮剂	500 倍液	7.14	5.32	13.12	86.10	81.93
9	实施例8 20%悬浮剂	500 倍液	7.56	5.32	13.60	86.87	82.31
10	对比例1 20%悬浮剂	500 倍液	7.69	16.58	34.63	59.76	55.71
11	对比例2 20%悬浮剂	500 倍液	7.28	17.38	33.55	55.45	54.68
12	三唑酮	1000 倍液	7.43	10.88	22.55	72.67	70.15
13	CK		7.53	40.35	76.57	—	—

[0156] 试验实施例4:本发明组合物对烟草病毒病盆栽药效试验

[0157] 试验药剂:本发明所获组合物10%油悬浮剂,对照药剂:20%盐酸吗啉胍(江西禾益化工)。

[0158] 试验设计与方法:试验共设10%组合物有悬浮剂2000倍液、1500倍液、1000倍液三个剂量,以20%盐酸吗啉胍400倍液作为对照药剂,另设空白对照。按上述5个处理的使用浓度对培养至3~4叶期的烟草进行喷雾处理,每处理20株,4次重复。24h后取CMV毒源烟叶按烟叶和蒸馏水质量比1:40的比例配制CMV病汁液(现配现用)。将配制好的病汁液采用摩擦接种法接种于烟草叶片上。施药后约5~7天,分别调查施药的和未施药的叶片上的枯斑数和褪绿斑数,以未施药的叶为对照,统计接种后施抗病毒剂和施药后接种抗病毒剂对CMV的抑制效果。

$$[0159] \quad P = \frac{CK-PT}{CK} \times 100$$

[0160] 式中：

[0161] P——防治效果,单位为百分数(%)；

[0162] CK——空白对照枯斑平均个数；

[0163] PT——药剂处理枯斑平均个数。

[0164] 有结果可知(表5),本发明组合物对烟草病毒病具有一定的防治作用。实施例1及实施例4、6-8所获组合物防治效果明显优于对比例1及对比例2所获组合物防治效果。

[0165] 表4本发明组合物10%油悬浮剂对烟草病毒病盆栽防治效果

药剂	药剂浓度	平均 枯斑数/个	防治效果% (7天后调查)
实施例 1 10%油悬浮 剂	2000 倍液	33.99	47.19
	1500 倍液	31.84	50.53
	1000 倍液	29.81	53.68
实施例 4 10%油悬浮 剂	2000 倍液	34.85	45.85
	1500 倍液	32.64	49.29
	1000 倍液	30.85	52.07
实施例 6 10%油悬浮 剂	1500 倍液	25.43	60.49
实施例 7 10%油悬浮 剂	1500 倍液	24.23	62.35
实施例 8 10%油悬浮 剂	1500 倍液	24.21	62.38
对比例 1 10%油悬浮 剂	1500 倍液	46.04	28.46
对比例 2 10%油悬浮 剂	1500 倍液	47.24	26.60
20%盐酸吗 啉胍	400 倍液	26.20	59.29
清水对照 CK	-	64.36	-

[0168] 试验实施例5本发明组合物对番茄青枯病防治效果

[0169] 试验药剂:本发明所获组合物5%微乳剂,对照药剂:农用硫酸链霉素。

[0170] 试验设计与方法:将经致病性测定番茄青枯菌(*Ralstoniasolanacearum*)保存于密闭的无菌蒸馏水中,室温存放备用。将番茄种子消毒后,25℃温箱内催芽2~3d,出芽后播种于灭菌的蛭石营养钵(10.0cm×10.0cm)中,2株/钵。番茄苗培养至2~3叶期时,备用。将组合物5%微乳剂400水溶液和清水(CK)对番茄苗进行灌根处理,20mL/株,每个处理重复3次。48h后用伤根灌菌法接种青枯菌,菌悬液浓度为 10^8 cfu/mL,接种量为5mL/株。接种后,将番茄置于至30℃温室中,保湿培养。接种后21d记录发病情况,计算发病率和相对防效。

[0171] 相对防效(%)=(对照的发病率-处理的发病率)/对照的发病率×100

[0172] 有结果可知(表5),本发明组合物对番茄青枯病具有一定的防治效果。实施例3、6-8所获组合物活性效果明显优于对比例1及对比例2所获组合物活性效果。

[0173] 表5本发明组合物50%微乳剂对番茄青枯病防治效果

编号	药剂	药剂浓度	番茄总株数	病株率(%)	相对防效(%)	
[0174]	实施例 3 5%微乳剂	600 倍液	30	36.90	48.83	
		400 倍液	30	31.98	55.65	
		200 倍液	30	25.83	64.17	
4	实施例 6 5%微乳剂	400 倍液	30	21.20	70.60	
[0175]	实施例 7 5%微乳剂	400 倍液	30	20.47	71.61	
	实施例 8 5%微乳剂	400 倍液	30	20.12	72.09	
	对比例 1 5%微乳剂	400 倍液	30	60.29	16.38	
	对比例 2 5%微乳剂	400 倍液	30	57.92	19.67	
	9	72%农用硫酸 链霉素	1000 倍液	30	27.38	62.02
	10	CK		30	72.10	--

[0176] 注:以上数据均系3次重复的平均值。

[0177] 上述试验实施例仅列举了部分本发明农药组合物的病害防治效果,本发明的发明人通过反复实验发现,本发明的农药组合物对多种病原菌(包括表1中列举的病原菌)引起的病害均具有明显的防治效果,且防治效果明显优于现有虎杖提取物的防治效果。

[0178] 以上所述是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明所述原理的前提下,还可以作出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。