

水杨酸·甲基茉莉酸与伤诱导对烟草 *sm-Nvas* 同源基因表达调控的初步研究

邵敏敏, 何福收, 陈 同, 王春台, 谭艳平*

(中南民族大学生命科学学院, 武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室, 生物技术国家民委重点实验室, 湖北武汉 430074)

摘要 [目的]研究 *Nicotiana sylvestris* 和 *Nicotiana attenuata* 这 2 种烟草中 *sm-Nvas* 同源基因分别在经水杨酸(SA)、甲基茉莉酸(MeJA)及伤诱导后的表达情况。[方法]采用 Trizol 法提取经水杨酸、甲基茉莉酸及伤处理后的 2 种烟草叶片的总 RNA, 转录成 cDNA, 利用实时荧光定量 PCR 检测 *sm-Nvas* 同源基因的表达量并进行数据分析。[结果]通过对烟草叶片中 *sm-Nvas* 同源基因的表达量分析, 结果表明水杨酸、甲基茉莉酸及伤处理能对 *sm-Nvas* 同源基因的表达起调控作用。[结论]用 SA、MJA 和伤处理 *Nicotiana sylvestris* 和 *Nicotiana attenuata* 烟草, 发现 *sm-Nvas* 的表达量均有所增加。在处理 8 h 后其表达量发生了明显的变化, 在 12~16 h 其表达量的增加达到峰值。这对研究烟草的 *sm-Nvas* 及其同源基因的功能奠定重要的基础。

关键词 甲基茉莉; 水杨酸; 伤害处理; 实时荧光定量 PCR; *sm-Nvas*; 同源基因; 烟草

中图分类号 Q 786 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)16-0105-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.16.028



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of Salicylic Acid, Methyl Jasmonate and Wound Induction on the Expression of *sm-Nvas* Homologous Genes in Tobacco
SHAO Min-min, HE Fu-shou, CHEN Tong et al (School of Life Sciences, South-Central University for Nationalities, Hubei Provincial Key Laboratory of Characteristic Plant Germplasm Protection and Utilization in Wuling Mountains, State Key Laboratory of Biotechnology, Wuhan, Hubei 430074)

Abstract [Objective] To study the expression of *sm-Nvas* homologous genes in two tobaccos, *Nicotiana sylvestris* and *Nicotiana attenuata*, after salicylic acid (SA), methyl jasmonate (MeJA) and wounding induction, respectively. [Method] Total RNA was extracted from the two tobacco leaves treated with SA, MeJA and wounding using Trizol method, and then reverse transcribed into cDNA. The expression of *sm-Nvas* homologous gene was detected by real-time fluorescence quantitative PCR and the data were analyzed. [Result] Based on analysis of the expression level of *sm-Nvas* homologous genes in tobacco leaves, it showed that salicylic acid, methyl jasmonic acid and wound treatment could regulate the expression of *sm-Nvas* homologous genes. [Conclusion] After SA, MJA and wounding treatment of *Nicotiana sylvestris* and *Nicotiana attenuata* tobacco, the expression of *sm-Nvas* homologous gene increased. After 8 hours of treatment, all the expression levels changed significantly, and reached the peak at about 12–16 hours. This will lay an important foundation for studying the function of *sm-Nvas* and its homologous genes in tobacco.

Key words Methyl jasmonic acid; Salicylic acid; Injury treatment; Real-time PCR; *sm-Nvas*; Homologous genes; Tobacco

烟草维管束发育相关基因 *sm-Nvas* 是一个受水杨酸(SA)和甲基茉莉酸(MeJA)特异性诱导表达的基因。利用 5'端缺失分析法把 *sm-Nvas* 基因启动子 ATG+1~463 区域序列截成片段插入到含有 GFP 标签的双元表达载体中, 转入 W38 型烟草植株。转基因烟草中的绿色荧光主要集中在维管束组织中表达, 说明该基因特异表达于维管束中^[1]。已经有试验表明把该基因导入到植物中, 将导致转基因植株矮化、叶脉增多、茎和叶脉增粗等一系列表型变化^[2-3]。*sm-Nvas* 基因由 1 392 个碱基组成, 编码 463 个氨基酸。经抗病性鉴定发现, 该基因具有增强水稻对稻瘟病以及油菜对菌核病抗性的特征^[4]。*sm-Nvas* 基因属于糖基转移酶家族成员, 糖基转移酶的功能涉及细胞中某些多糖的产生和生物大分子的代谢^[5-6], 同时还能参与植物的抗性反应^[7]。在植物激素作用和植物抗性反应方面, 糖基转移酶又与信号的感受和传递有关^[8]。

水杨酸是一种植物内源激素^[9], 它在黄瓜、烟草和拟南芥中的升高伴随着抗性的增加^[10]。有研究表明, 在芥属植

物体中 SA 和 MeJA 相互协同可以抵御病原体的侵害^[11]。在烟草和拟南芥体内导入 *NahG* 基因会让 SA 失活最终导致植物抵抗力明显下降^[12]。

一般而言, 同源基因的功能具有相似性。在前期工作中, 从 *Nicotiana sylvestris* 和 *Nicotiana attenuata* 烟草中克隆了 *sm-Nvas* 同源基因。经序列比对发现, 它们的开放阅读框长度相同, 都为 1 392 个碱基, 但碱基序列不完全相同, *Nicotiana sylvestris* 烟草与它的同源性的 94%, 而 *Nicotiana attenuata* 烟草的同源性为 95%。编码的 463 个氨基酸 *Nicotiana sylvestris* 有 427 个氨基酸相同, 92% 的同源性, *Nicotiana attenuata* 有 435 个氨基酸相同, 94% 的同源性。为了研究这 2 个同源基因是否同样受激素和伤诱导, 该研究利用外源激素和伤害处理烟草叶片, 分析同源基因表达情况, 以期为进一步研究 *sm-Nvas* 同源基因的特征和功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料。*Nicotiana sylvestris* 和 *Nicotiana attenuata* 烟草。

1.1.2 试剂。PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒 (TaKaRa 公司); SYBR Green Realtime PCR Master Mix (TOYOBO 公司); Trizol 试剂 (Invitrogen 公司); 三氯甲烷 (国药集团); 异丙醇 (国药集团); 无水乙醇 (国药集团); DEPC

基金项目 湖北省自然科学基金项目 (2018CFB481); 中南民族大学研究生学术创新基金项目 (2019syxj237)。

作者简介 邵敏敏 (1990—), 女, 江苏南通人, 硕士研究生, 从事植物遗传学研究。*通信作者, 副教授, 硕士生导师, 博士, 从事烟草水稻功能基因的相关研究。

收稿日期 2020-02-24; **修回日期** 2020-03-26

(Bio-shop 公司);1 mmol/L SA 溶液;2 mmol/L SA 溶液;1 mmol/L MeJA 溶液;2 mmol/L MeJA 溶液。

1.2 方法

1.2.1 引物设计。以烟草中跨一段内含子的 *ACTIN* 基因作为对照内参来检测分析基因表达情况。*ACTIN* 的正向引物:5'-GCCATCAGCAACAAATACCA-3',反向引物:5'-GCCTCATCACCAACATAAGCA-3';*sm-Nvas* 的正向引物:5'-CCTTGACTGGTTGGGTTGCT-3',反向引物:5'-AACGAAGGCAAAATCCCCGAGG-3'。

1.2.2 烟草植株的处理。对 *Nicotiana sylvestris* 和 *Nicotiana attenuata* 烟草植株分别用 1 mmol/L SA 溶液、2 mmol/L SA 溶液、1 mmol/L MeJA 溶液、2 mmol/L MeJA 溶液以及伤害处理叶片背面,并用水溶液处理作对照,处理时间分别为 8、12、16 和 20 h。

1.2.3 Trizol 法提取叶片的总 RNA。取被处理的叶片 0.1 g 于 1.5 mL 的 EP 管中加液氮研磨成粉末,加入 1 mL Trizol 振荡均匀,冰上静置 8 min,加入 200 μ L 三氯甲烷剧烈振荡 10 min 后 4 $^{\circ}$ C 冷冻离心机 12 000 r/min 离心 15 min,转移 450 μ L 上清液到新的 1.5 mL EP 管中,加 300 μ L 异丙醇轻柔混匀,室温静置 8 min,4 $^{\circ}$ C 冷冻离心机 10 000 r/min 离心 10 min 弃上清液,在沉淀中加 700 μ L 75% 乙醇悬浮沉淀,4 $^{\circ}$ C 冷冻 10 000 r/min 离心 5 min 弃上清,重复洗涤 1 次。上清液去除干净,通风干燥 3 min 至沉淀变得半透明,加入

20 μ L DEPC 处理水,溶解后于 65 $^{\circ}$ C 变性 15 min 后迅速置于冰上冷却,再放置于-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

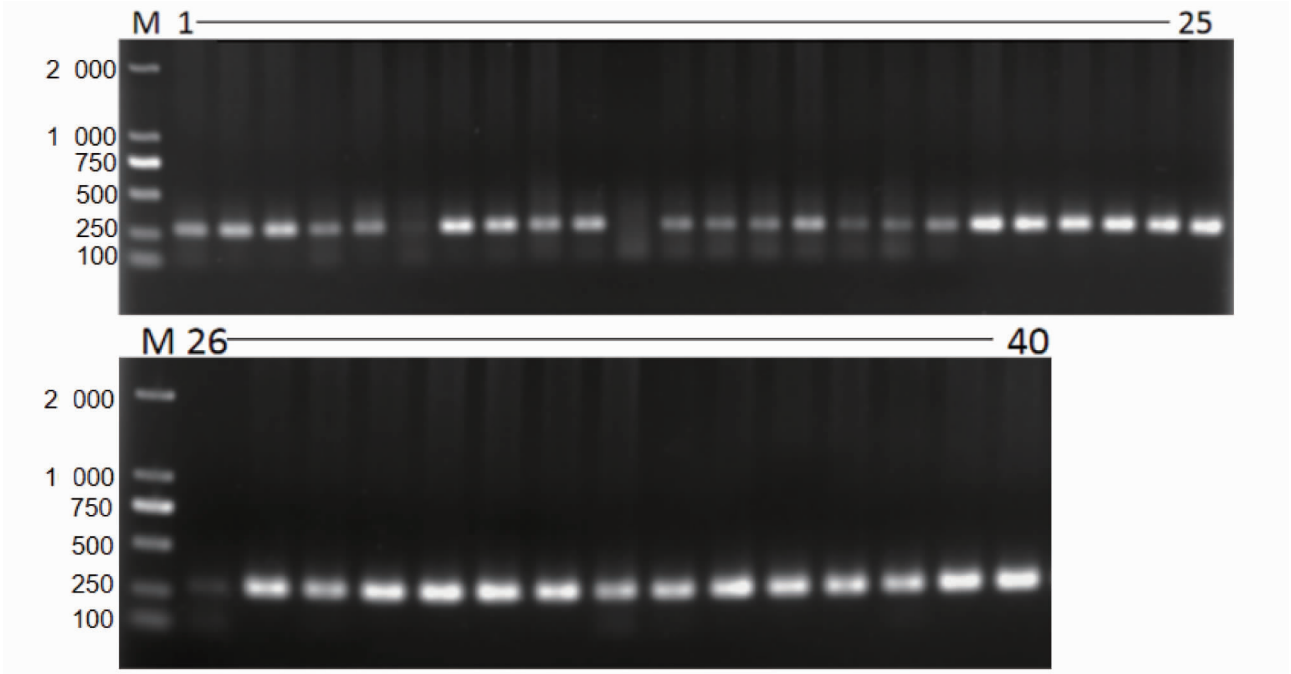
1.2.4 去除基因组 DNA 与逆转录合成 cDNA。取上一步提取出来的 1 μ g 总 RNA 用 TaKaRa 公司的 PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒中 DNase I 去除基因组 DNA,后用试剂盒里的 Prime Script RT Enzyme Mix I 和 RT Prime Mix 逆转录合成 cDNA。

1.2.5 cDNA 的 *ACTIN* 检测。把反转录得到的 cDNA 用 *ACTIN* 引物进行 PCR 反应进行 cDNA 质量检测,扩增体系为 15 μ L,*ACTIN* 扩增程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,34 个循环;12 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.6 实时定量 PCR。将 cDNA 稀释 2 倍,以 *ACTIN* 基因为内参,cDNA 为模板采用实时定量 PCR 检测烟草 *sm-Nvas* 同源基因的表达量,15 μ L 扩增体系为 4.5 μ L 水、7.5 μ L SYBR Mix、1 μ L 引物 Mix 和 2.0 μ L 的 cDNA。反应程序为 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 s;95 $^{\circ}$ C 变性 5 s,60 $^{\circ}$ C 退火 10 s,40 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s,收集荧光信号并观察熔解曲线,每个基因设置 3 个重复。

2 结果与分析

2.1 cDNA 的检测 利用内参基因 *ACTIN* 检测 cDNA 质量可用,并且无基因组 DNA 污染(图 1)。条带单一,大小为 250 bp 左右。因为 cDNA 的模板量浓度有一些差异,导致目的条带的明暗程度不一样,经调整 cDNA 模板浓度后可进行下一步的荧光定量 PCR 试验。



注:M.DL2000;1~40.依次为 1 mmol/L SA 处理 8、12、16、20 h,2 mmol/L SA 处理 8、12、16、20,1 mmol/L MeJA 处理 8、12、16、20 h,1 mmol/L MeJA 处理 8、12、16、20,2 mmol/L MeJA 处理 8、12、16、20 h,水处理(对照)
Note:M.DL2000; 1~40.1 mmol/L SA treated for 8, 12, 16, 20 h, 2 mmol/L SA treated for 8, 12, 16, 20, 1 mmol/L MeJA treated for 8, 12, 16, 20 h, 1 mmol/L MeJA treated for 8, 12, 16, 20 h, 2 mmol/L MeJA treated for 8, 12, 16, 20 h, water treatment (control)

图 1 烟草 cDNA 的质量检测

Fig.1 Detection of tobacco cDNA

2.2 实时定量 PCR 的结果 该试验的烟草 *sm-Nvas* 同源基因检测成功,熔解曲线峰值单一,无非特异性扩增。以未处

理过的烟草叶片作为参照,不同激素处理和伤害处理过的叶片为试验样本。用水杨酸处理 *Nicotiana sylvestris* 烟草叶片

后 *sm-Nvas* 同源基因的表达情况如图 2,结果显示,1 mmol/L 水杨酸处理 *Nicotiana sylvestris* 烟草 8 h 后 *sm-Nvas* 同源基因的表达量开始升高,12 h 持续升高,到了 16 h 达到最高峰值然后开始下降,到 20 h 时已经降到了比较低水平,但是仍然高于对照组。与 1 mmol/L SA 处理的结果相似,2 mmol/L 水杨酸处理 8 h 后 *sm-Nvas* 同源基因开始升高,到 12 h 时增加速度比较缓慢,16 h 后 *sm-Nvas* 同源基因表达量迅速升高到了最大峰值然后在 20 h 后下降。

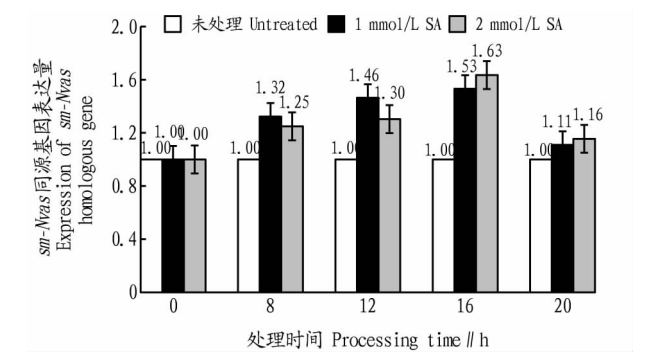


图 2 SA 处理 *Nicotiana sylvestris* 叶片后不同时段 *sm-Nvas* 同源基因的表达量

Fig.2 Expression of *sm-Nvas* homologous gene at various stages after *Nicotiana sylvestris* leaves treated by SA

用 MeJA 处理 *Nicotiana sylvestris* 烟草叶片后 *sm-Nvas* 同源基因的表达量情况如图 3,结果显示,1 mmol/L 的 MeJA 处理 *Nicotiana sylvestris* 后 8 h 时 *sm-Nvas* 同源基因的表达量开始升高,12 h 表达量稳定增加直到 16 h 时表达量达到最高峰值然后开始下降,20 h 时迅速下降到比 8 h 还要低。与 1 mmol/L MeJA 处理情况比较相似,2 mmol/L MeJA 处理的叶片中 *sm-Nvas* 同源基因的增长和下降趋势一致,只是整体的增加量并没有 1 mmol/L MeJA 处理的增长量大。

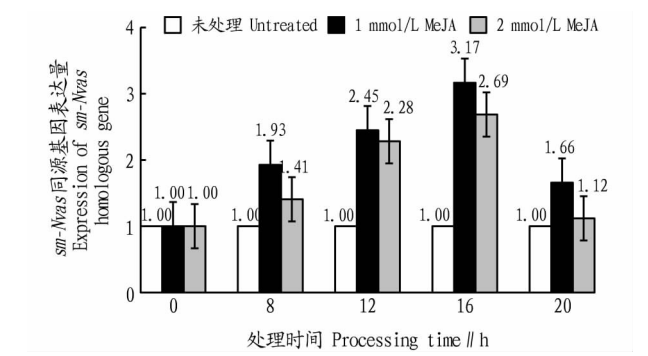


图 3 MeJA 处理 *Nicotiana sylvestris* 叶片后不同时段 *sm-Nvas* 同源基因的表达量

Fig.3 Expression of *sm-Nvas* homologous gene at various stages after *Nicotiana sylvestris* leaves treated by MeJA

用 SA 处理 *Nicotiana attenuata* 烟草叶片后 *sm-Nvas* 同源基因的表达情况如图 4,结果显示,1 mmol/L SA 处理 *Nicotiana attenuata* 叶片 8 h 后 *sm-Nvas* 同源基因的表达量有一些上升但并不明显,到 12 h 后 *sm-Nvas* 同源基因相较于 8 h 已经有了比较高的表达量,直到 16 h 时无明显增加,而到 20 h 同源基因表达量已经下降,但其表达量依旧高于对照组。与

1 mmol/L SA 处理的情况略有不同,2 mmol/L SA 处理 8 h 后 *sm-Nvas* 同源基因表达量升高,12 h 迅速达到最高峰值,在 16 h 后迅速下降。

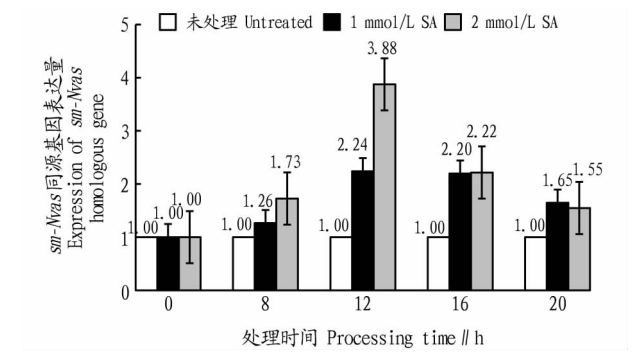


图 4 SA 处理 *Nicotiana attenuata* 叶片后不同时段 *sm-Nvas* 同源基因的表达量

Fig.4 Expression of *sm-Nvas* homologous gene at various stages after *Nicotiana attenuata* leaves treated by SA

用 MeJA 处理 *Nicotiana attenuata* 烟草叶片后 *sm-Nvas* 同源基因的表达量情况如图 5,结果显示,1 mmol/L MeJA 处理 8 h 后 *sm-Nvas* 同源基因的表达量逐步升高,16 h 达到最高峰值,在 20 h 后迅速下降,稍高于对照组。与 1 mmol/L MeJA 处理结果稍微不同的是,2 mmol/L MeJA 处理 8 h 后 *sm-Nvas* 同源基因的表达量升高,到 12 h 增加的幅度很缓慢,16 h 明显增加,但 20 h 又迅速下降。

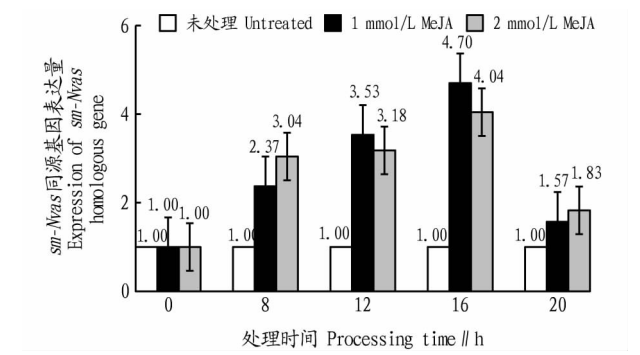


图 5 MeJA 处理 *Nicotiana attenuata* 叶片后各时期 *sm-Nvas* 同源基因的表达量

Fig.5 Expression of *sm-Nvas* homologous gene at various stages after *Nicotiana attenuata* leaves treated by MeJA

损伤处理 *Nicotiana sylvestris* 烟草叶片后 *sm-Nvas* 同源基因的表达量如图 6,结果显示,损伤处理 8 h 后 *sm-Nvas* 同源基因升高到 12 h 表达量略微下降,到了 16 h 表达量降低到比对照组还要低的程度后又在 20 h 时缓慢回升,但是依旧低于对照组。

损伤处理 *Nicotiana attenuata* 烟草叶片后 *sm-Nvas* 同源基因的表达量情况如图 7,结果显示,损伤处理后 8 h 表达量升高,到 12 h 表达量持续增加到达最大峰值,在 16 h 后降低,直到 20 h 后表达量低于对照组。

3 结论与讨论

该试验研究了水杨酸、甲基茉莉酸以及损伤处理烟草 *Nicotiana sylvestris* 和 *Nicotiana attenuata* 叶片后,其 *sm-Nvas*

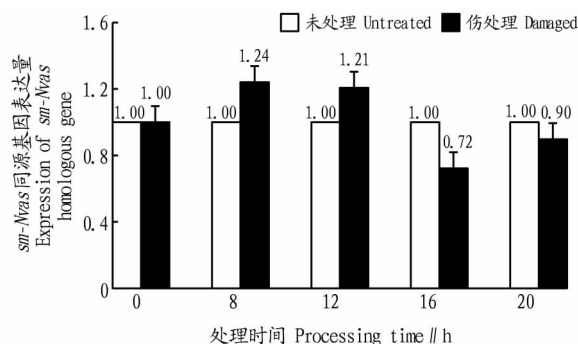


图6 伤处理 *Nicotiana sylvestris* 叶片后各时期 *sm-Nvas* 的表达量

Fig.6 Expression of *sm-Nvas* homologous gene at various stages after *Nicotiana sylvestris* leaves damaged

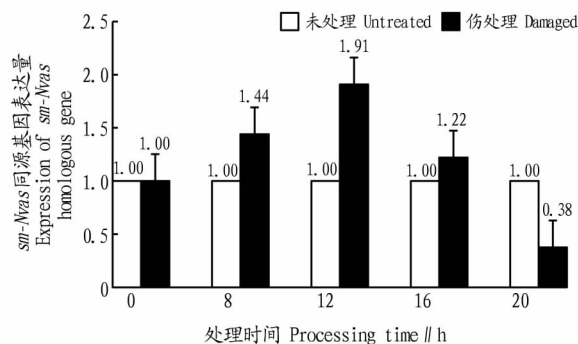


图7 伤处理 *Nicotiana attenuata* 叶片后各时期 *sm-Nvas* 的表达量

Fig.7 Expression of *sm-Nvas* homologous gene at various stages after *Nicotiana attenuata* leaves damaged

同源基因表达量的变化。直系同源基因通常是由同一个祖先进化而来的,一般而言是一些功能比较重要的,例如一些酶和调控重要生命活动的蛋白类,通常这类蛋白的进化程度小,进化速度也很慢。该类基因一般在序列上保守性很高,功能相同或相近,调控途径也相似^[13]。研究结果显示不同浓度的 SA 和 MeJA 对 *sm-Nvas* 同源基因表达量的变化略有不同,但都表现出相似的特征,说明同源基因也具有被 SA、MeJA 诱导的特征,这一特性与 *sm-Nvas* 相似。在烟草 *Nicotiana sylvestris* 中,1 mmol/L SA 处理 8~12 h 后 *sm-Nvas* 同源基因表达量的变化比 2 mmol/L SA 处理的要明显,16~20 h 后表达量的变化值低于 2 mmol/L SA 处理的变化值,但 2 种浓度的 SA 处理后变化趋势相同,都是在 16 h 后达到了表达量的最高水平;而用 MeJA 处理,*sm-Nvas* 同源基因表达量都升高,且 16 h 时表达量达到最大峰值而后迅速降低。相对而言,1 mmol/L 处理的表达量要比 2 mmol/L 处理的表达量增加明显,可能是因为低浓度的激素诱导能力更强。在烟草 *Nicotiana attenuata* 中,SA 处理后 12 h 表达量就开始增加达到最高值,而 MeJA 在 16 h 的表达量才是峰值。该研究结果表明,这 2 种激素处理 16 h 后,同源基因的表达量才出现下降,推测可能是激素已经被烟草自身降解消耗导致表达量迅速下降。有研究表明水杨酸(SA)和乙酰水杨酸(ASA)是茉莉酸(JA)诱导目标基因 mRNA 和蛋白质合成的有效抑制

剂^[14]。对拟南芥用 SA 和 JA 共同处理会导致 JA 介导的防御素基因诱导的丧失^[15-16]。SA 和 JA 之间存在相互拮抗作用,可能导致不同激素处理的烟草同源基因出现的峰值有所差异,烟草 *Nicotiana attenuata* 中的 *sm-Nvas* 同源基因可能优先参与的是 SA 途径,所以在 12 h 就能快速达到高峰。

损伤处理后,*sm-Nvas* 同源基因表达量在 8~12 h 略有增加,但到了 16 h 开始下降,最终值比对照组还低。由于水杨酸和甲基茉莉酸参与植物体防御系统相关途径^[17],在损伤处理后 *sm-Nvas* 同源基因表达量也开始出现了一定量的升高,可以推测 *sm-Nvas* 同源基因可能与植物体的防御通路相关。番茄在受到机械损伤或是病虫害害下,转录 MYC2 激活 JA 响应基因的表达,进而调控植物抗性^[18]。其中的损伤修复转导途径需要乙烯和 JA 共同作用,在伤口反应过程中调节蛋白酶抑制剂基因的表达^[19]。在接下来的工作中,将 2 种激素和损伤处理两两结合,进一步研究共同作用下 *sm-Nvas* 同源基因在 RNA 和蛋白质水平的表达情况,为研究其同源基因的生物学功能奠定基础。

参考文献

- [1] 谭艳平,叶莲,何福收,等.烟草维管束发育相关基因 *Nvas* 启动子顺式作用元件鉴定[J].中南民族大学学报(自然科学版),2018,37(2):31-35.
- [2] 李静.SA 和 MeJA 双重诱导的 GT 基因启动子 5'-缺失体构建及其功能研究[D].武汉:中南民族大学,2007.
- [3] 尚书凤,刘学群,周杰,等.1 个烟草糖基转移酶启动子在拟南芥中的表达[J].华中农业大学学报,2009,28(3):257-261.
- [4] 张俊,卢卫,谭艳平,等.维管束发育相关基因 *sm-Nvas* 对水稻稻瘟病抗性分析[J].安徽农业科学,2019,47(13):90-91,94.
- [5] CHARNOCK S J, HENRISSAT B, DAVIES G J. Three-dimensional structures of UDP-sugar glycosyltransferases illuminate the biosynthesis of plant polysaccharides[J]. Plant physiology, 2001, 125(2): 527-531.
- [6] TARBOURIECH N, CHARNOCK S J, DAVIES G J. Three-dimensional structures of the Mn and Mg dTDP complexes of the family GT-2 glycosyltransferase SpsA: A comparison with related NDP-sugar glycosyltransferases[J]. Journal of molecular biology, 2001, 314(4): 655-661.
- [7] LANGLOIS-MEURINNE M, GACHON C M M, SAINDRENAN P. Pathogen-responsive expression of glycosyltransferase genes *UGT73B3* and *UGT73B5* is necessary for resistance to *Pseudomonas syringae* pv *tomato* in *Arabidopsis*[J]. Plant physiology, 2005, 139(4): 1890-1901.
- [8] HENRISSAT B, DAVIES G J. Glycoside hydrolases and glycosyltransferases. Families, modules, and implications for genomics[J]. Plant physiology, 2000, 124(4): 1515-1519.
- [9] RASKIN I. Role of salicylic acid in plants[J]. Annual review of plant biology, 1992, 43(1): 439-463.
- [10] LIN T C, ISHII H. Accumulation of H₂O₂ in xylem fluids of cucumber stems during ASM-induced systemic acquired resistance (SAR) involves increased LOX activity and transient accumulation of shikimic acid[J]. European journal of plant pathology, 2009, 125(1): 119-130.
- [11] LIU L J, SONBOL F M, HUOT B, et al. Salicylic acid receptors activate jasmonic acid signalling through a non-canonical pathway to promote effector-triggered immunity[J]. Nature communications, 2016, 7: 1-10.
- [12] KACHROO P, KACHROO A, LAPCHYK L, et al. Restoration of defective cross talk in *ssi2* mutants: Role of salicylic acid, jasmonic acid, and fatty acids in *SSI2*-mediated signaling[J]. Molecular plant-microbe interactions, 2003, 16(11): 1022-1029.
- [13] SOUCY S, OLENDZENSKI L, GOGARTEN J P. Orthologues, paralogues and horizontal gene transfer in the human holobiont[M]. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2013.
- [14] DOARES S H, NARVAEZ-VASQUEZ J, CONCONI A, et al. Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid[J]. Plant physiology, 1995, 108(4): 1741-1746.

左右达到最大值,然后趋于平衡。不同 pH 条件下溶出度曲线显示,随着 pH 增大,尤其为碱性时,药物溶出度高于其他 pH 条件,说明 pH 增加有利于药物的溶出。

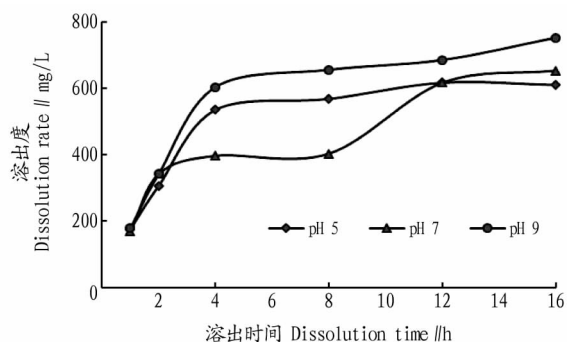


图4 pH对阿维菌素凝胶微球药物溶出度的影响

Fig.4 Effect of pH on drug dissolution of avermectin gel microspheres

2.2.4.2 温度对阿维菌素凝胶微球缓释性能的影响。由图5可知,在20和30℃条件下,药物的溶出度均随着时间延长而增加,但总体来看,温度高有利于阿维菌素的快速溶出。

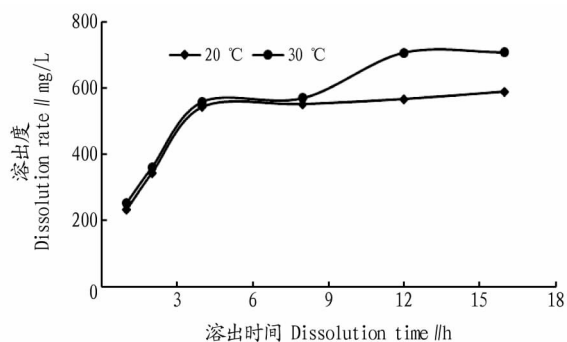


图5 温度对阿维菌素凝胶微球药物溶出度的影响

Fig.5 Effect of temperature on drug dissolution of avermectin gel microspheres

3 结论

该研究以海藻酸钠和氯化钙为成球材料,以壳聚糖和PVA为覆膜材料,戊二醛为交联剂,通过正交试验优化工艺

制备了负载阿维菌素的凝胶微球。最终确定了最优制备条件,各组分质量分数:海藻酸钠1%、氯化钙4%、壳聚糖2%、PVA2%、戊二醛1.5%。通过对制备的阿维菌素凝胶微球红外光谱分析表明阿维菌素被成功包埋在凝胶微球中。阿维菌素凝胶微球的溶胀性能测定结果表明,凝胶微球在pH=7时溶胀率最大。制备的阿维菌素凝胶微球的药物溶出性能对温度和pH具有响应性,随着pH和温度的升高溶出度增大,均表现出一定的缓释性。

参考文献

- [1] 辛露露,张雨,刘宝传,等.阿维菌素凝胶微球的制备及其缓释性能[J].精细化工,2018,35(4):652-657.
- [2] 许同桃,金义翠,朱文静,等.微囊化缓释复合农药海藻酸钠-苯磺隆的制备与表征[J].江苏农业科学,2016,44(6):202-204.
- [3] 尚青,李国庭,范婷婷.阿维菌素缓释微球的研制[J].河北师范大学学报(自然科学版),2007,31(2):208-211.
- [4] 赵明明,杨利,王智,等.24%螺螨酯·阿维菌素悬浮剂的制备及表征[J].农药,2015,54(8):576-579.
- [5] FINK D W,DEMONTIGNY P,SHIM J S K.Evolution of a specific fluorogenic derivatization of ivermectin for bioanalytical applications.A review[J].The analyst,1996,121(11):1533-1537.
- [6] MACCONNELL J G,DEMCHAK R J,PREISER F A,et al.Relative stability,toxicity,and penetrability of abamectin and its 8,9-oxide[J].Journal of agricultural and food chemistry,1989,37(6):1498-1501.
- [7] 张琨,林松,李敬安,等.药物控释用海藻酸钠-壳聚糖-明胶的研究进展[J].国际生物医学工程杂志,2008,31(4):197-200.
- [8] SONG H Y,YU W T,GAO M,et al.Microencapsulated probiotics using emulsification technique coupled with internal or external gelation process[J].Carbohydrate polymers,2013,96:181-189.
- [9] 杨军星,王琦,王媛媛,等.双重载药多层海藻酸盐-壳聚糖缓释微球的制备及体外释放[J].高等学校化学学报,2015,36(5):1025-1032.
- [10] 徐蕾.农药-壳聚糖共聚合物微胶囊缓释剂的制备及性能研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2013.
- [11] 史同瑞,刘宇,苏永福,等.壳聚糖-海藻酸钠微囊形成机理及制备方法研究进展[J].上海畜牧兽医通讯,2015(5):11-13.
- [12] 王莹,汪航,曾日中,等.海藻酸钠-聚乙烯醇交联微球制备参数优化研究[J].热带作物学报,2015,36(12):2254-2259.
- [13] 刘群,卢芳,曾勇.紫外分光光度法测定阿维菌素预混剂的含量[J].甘肃畜牧兽医,2002,32(1):19-20.
- [14] 马萍,祝力,孙淑英,等.海藻酸钙凝胶微球的制备和pH依赖性溶胀[J].中国海洋药物,2003,5:35-37.
- [15] 谭真,张雷,张倩.聚乙烯醇/羧甲基纤维素钠交联微球的制备及性能研究[J].塑料工业,2015,43(3):41-44.
- [16] 王碧,刘凯,张良英.2,4-D在明胶/壳聚糖微球中的包埋与释放[J].内江师范学院学报,2008,23(6):57-60.
- [17] SALZMAN R A,BRADY J A,FINLAYSON S A,et al.Transcriptional profiling of sorghum induced by methyl jasmonate,salicylic acid,and aminocyclopropane carboxylic acid reveals cooperative regulation and novel gene responses[J].Plant physiology,2005,138(1):352-368.
- [18] 曹芸运,张娜,郭仰东.茉莉酸诱导的bHLH转录因子基因SIWin4调控番茄机械损伤响应的研究[C]//中国园艺学会2018年学术年会论文集摘要集.北京:中国园艺学会,2018.
- [19] O'DONNELL P J,CALVERT C,ATZORN R,et al.Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants[J].Science,1996,274(5294):1914-1917.

(上接第108页)

- [15] VAN DER DOES D,LEON-REYES A,KOORNNEEF A,et al.Salicylic acid suppresses jasmonic acid signaling downstream of SCF^{COI1}-JAZ by targeting GCC promoter motifs via transcription factor ORA59[J].The plant cell,2013,25:744-761.
- [16] SPOEL S H,KOORNNEEF A,CLAESSENS S M C,et al.NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol[J].The plant cell,2003,15:760-770.