

· 专论与综述 ·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2023.0078

柠檬烯在农业病虫害防控中的应用研究进展

李焯青^{1,2}, 张昌朋¹, 方楠¹, 赵金浩³, 王祥云¹, 赵学平¹, 蒋金花^{*1}

(1. 省部共建农产品质量安全危害因子与风险防控国家重点实验室, 浙江省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 杭州 310021; 2. 宁波大学食品与药学学院, 浙江宁波 315800; 3. 浙江大学农药与环境毒理研究所, 杭州 310058)

摘要: 随着农药减量政策的实施, 植物源农药因具有低毒、低残留等特点而越来越受到重视。柠檬烯是一种广泛存在于柑橘类精油中的天然单环萜烯, 因其具有多种生物活性, 在农业病虫害防控中具有一定的潜能和应用前景。本文综述了近年来柠檬烯及其精油在杀虫、杀螨、除草、杀真菌等农业领域的研究与应用进展, 并对其生物活性的作用机理进行了总结归纳。同时, 介绍了柠檬烯制剂在我国的登记情况, 以及柠檬烯纳米制剂在防治农业病虫害中的研究现状和应用, 并对该领域的研究发展趋势和前景进行了展望, 可为柠檬烯在农药减量化和病虫害绿色防控中的应用提供科学依据。

关键词: 柠檬烯; 植物源农药; 柑橘精油; 生物防治; 纳米制剂

中图分类号: S482; TQ450.21 文献标志码: A

Research progress of limonene in the prevention and control of agricultural diseases, pests and weeds

LI Yeqing^{1,2}, ZHANG Changpeng¹, FANG Nan¹, ZHAO Jinhao³, WANG Xiangyun¹, ZHAO Xueping¹, JIANG Jinhua^{*1}

(1. State Key Laboratory for Managing Biotic and Chemical Threats to the Quality and Safety of Agro-products, Institute of Agro-product Safety and Nutrition, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; 2. School of Food and Pharmacy, Ningbo University, Ningbo 315800, Zhejiang Province, China; 3. Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: With the implementation of pesticide reduction, plant-derived pesticides have received more and more attention because of their low toxicity and low residue. Limonene is a natural monocyclic terpene widely present in citrus essential oils, which has diverse biological activities, and has potential and application prospect in agricultural disease, pest and weed control. The research progress of limonene and its essential oil in the agricultural fields of insecticidal, acaricidal, phytocidal and antifungal activity in recent years, and the mechanism of its biological activities were briefly reviewed and summarized in this paper. Meanwhile, the registration of limonene formulations in China and the research progress and application of limonene nano-formulations against agricultural diseases and pests

收稿日期: 2023-04-12; 录用日期: 2023-06-28; 网络首发日期: 2023-09-13.

Received: April 12, 2023; Accepted: June 28, 2023; Published online: September 13, 2023.

URL: <https://doi.org/10.16801/j.issn.1008-7303.2023.0078>

<http://www.nyxb.cn/cn/article/doi/10.16801/j.issn.1008-7303.2023.0078>

基金项目: 国家重点研发计划 (No. 2022YFD1700500); 国家自然科学基金面上项目 (No. 32272577).

Funding: Supported by National Key Research and Development Program of China (No. 2022YFD1700500), National Natural Science Foundation of China (No. 32272577).

第一作者 (First author): 李焯青, sunnyliyeqing@163.com. *通信作者 (Corresponding author): 蒋金花, jiangjh@zaas.ac.cn.

The authors declare that they have no competing interests.



were introduced, and the future development trend and research direction of this field were prospected, which will provide the scientific basis for the application of limonene in pesticide reduction and agricultural disease, pest and weed control.

Keywords: limonene; plant-derived pesticides; citrus essential oil; biological control; nano-formulations

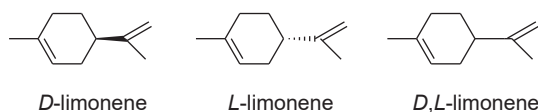
化学农药在防治农业病虫害、提高农产品产量和品质的同时, 其不合理或不科学使用也易导致农药残留、环境污染等问题, 进而对农产品质量和生态环境安全产生潜在的危害。随着大众环保意识、食品安全意识及健康意识的提高, 农药产品的研发也朝着高活性、低风险、可持续的方向发展和创新。在农业绿色生产和高质量发展理念的引领下, 我国近年来持续推进农药减量化政策的实施, 推动绿色投入品等领域的自主创新, 为生物源农药的发展带来了良好的机遇和空间^[1-2]。目前, 我国大力支持生物源农药的登记和推广使用, 每年新登记的生物源农药品种、数量和应用范围不断增加, 包括微生物源农药、植物源农药及生物化学农药等^[3]。其中, 以植物体内对病原菌具有拮抗作用的化学物质为主要成分的植物源农药, 包括生物碱类化合物、黄酮类化合物、萜类化合物及植物精油(挥发油)等, 因具有低毒、低残留、对非靶标生物及环境安全等特点而越来越受到重视^[4]。

植物精油是一类具有多种活性的植物次生代谢物, 由于其具有对天敌昆虫、人畜无害, 在环境中易降解的特性, 已成为天然源农药开发的重要途径之一^[4-6]。柠檬烯(limonene)作为一种广泛存在于柑橘类精油中的天然单环萜烯, 不仅在食品和医药领域已得到广泛应用^[7], 还能够作为植物源农药用于农业病虫害的生物防治^[8]。研究表明, 柠檬烯是食品、饮料和香料中常用的风味添加剂, 美国食用香料与提取物制造商协会(FEMA)认定柠檬烯为一般公认安全级, 我国GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中规定D-柠檬烯为食品中允许使用的香料^[9]。柠檬烯还具有良好的抗炎、抗氧化、抗肿瘤等活性, 对多种疾病具有潜在的预防和治疗作用^[10-14]。此外, 现有研究表明, 柠檬烯在农业领域还具有杀虫、杀菌及除草等多种生物活性, 同时作为助剂具有提高农药防效等作用, 在农业病虫害防控中具有一定的应用潜力^[8, 15-16]。本文拟全面梳理

和总结近年来柠檬烯及柠檬烯精油在防治农业病虫害中的研究进展和应用前景, 以期探索柠檬烯在农药减量增效和农业病虫害绿色防控中的广泛应用提供科学依据。

1 柠檬烯的理化特征及来源

柠檬烯又名苈烯、双戊烯, 化学名称为1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)环己烯, 分子式为 $C_{10}H_{16}$, 相对分子质量为136.23, 是一种广泛存在于植物中的单环萜烯。柠檬烯一般呈无色或浅黄色液体状, 具有类似柠檬的香味, 不溶于水, 易溶于乙醇等有机溶剂^[17]。天然柠檬烯分别以D-柠檬烯、L-柠檬烯及D,L-柠檬烯3种异构体(结构见图式1)存在于植物精油中, 由于其结构中含有不饱和键, 柠檬烯在光照和受热条件下不稳定, 易发生氧化。D-柠檬烯是自然界中常见的一种构型, 可从柑橘油、柠檬油、甜橙油等柑橘类精油中提取, L-柠檬烯主要来自松针、薄荷等植物中, D,L-柠檬烯则主要存在于多种黄松木节挥发油中, L-柠檬烯和D,L-柠檬烯在天然植物中含量极低且不易提取^[8, 18]。柠檬烯的提取和大多数植物精油的提取方法相似, 主要包括水蒸气蒸馏法、冷榨法、有机溶剂浸提法、超临界流体萃取法等^[19]。



图式1 柠檬烯结构式

Scheme 1 Structural formulas of limonene

2 柠檬烯及其精油在农业病虫害防控中的应用

随着人们环保意识、食品安全意识和健康意识的持续提高, 植物源农药在农药减量和农业病虫害防控中得到了广泛的应用^[4-6]。研究发现, 柠檬烯具有多种生物活性, 对人畜低毒、易降解、安全性高, 在杀虫、杀螨、除草、杀菌等农业领域都已得到一定的应用^[8, 20]。早在2010年, D-柠

柠檬烯就被美国环境保护局 (USEPA) 批准作为天然的杀虫剂和驱蚊剂^[16]。2018年, 美国奥罗阿格瑞国际有限公司在中国首次登记了 92% *D*-柠檬烯原药及其 5% 可溶液剂, 用于防治烟粉虱、红蜘蛛以及植物炭疽病和白粉病, 标志着柠檬烯在我国正式作为杀虫和杀菌活性成分进入农业生产应用领域。随后, 柠檬烯受到越来越多的关注, 在农业病虫害防控领域得到了一系列的研究和应用。

2.1 杀虫活性

柠檬烯及柠檬烯精油具有显著的杀虫活性, 主要通过引诱、驱避、熏蒸、触杀等方式作用于害虫 (表 1)。Ibrahim 等^[21] 研究发现, 柠檬烯对甜菜胞囊线虫 *Heterodera schachtii* 具有一定的触杀效果, 100 $\mu\text{g/mL}$ 柠檬烯处理甜菜幼苗 3 个月后, 胞囊线虫数量比空白对照组减少 3%。Hollingsworth^[22] 研究发现, 1% 的柠檬烯混合溶液对粉蚧 *Rhizoecus* spp. 和粉虱科昆虫都具有明显的抑制作用, 在药液喷洒或浸渍处理 1 min 后, 对粉蚧的平均致死率高达 69%~100%。柠檬烯的乙醇溶液对果蝇 *Drosophila melanogaster* 具有较强的驱避作用, 且随着药剂浓度增加其驱避作用增强, 其中 2%、4%、6% 柠檬烯乙醇溶液的驱避率分别为 65%、90% 和 100%^[23]。Liang 等及 Guo 等的研究表明, 含有柠檬烯的植物精油对赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 和嗜卷书虱 *Liposcelis bostrychophila* 具有显著的驱避和熏蒸活性, 牛尾蒿精油 (柠檬烯含量 17.4%, 质量分数, 下同) 对赤拟谷盗和嗜卷书虱的熏蒸活性 LC_{50} 值分别为 49.54 和 0.74 $\mu\text{g/mL}$ ^[24], 刺柏叶精油 (柠檬烯含量为 11%) 对这两种害虫也具有显著的驱避活性, 其接触毒性 LC_{50} 值分别为 29.14 和 81.5 $\mu\text{g/mL}$ ^[25], 推测上述精油中的柠檬烯可能是对这两种害虫产生驱避作用的主要活性成分。此外, 杨杉^[26] 的研究也发现, 含有柠檬烯的精油对玉米象 *Sitophilus zeamais* 成虫和赤拟谷盗成虫有较好的熏蒸活性, 认为柠檬烯是其中熏蒸杀虫的有效活性成分之一; 且该研究同时发现, 12.5 $\mu\text{L/L}$ 的柠檬烯对赤拟谷盗成虫的致死率为 68.33%, 25 和 50 $\mu\text{L/L}$ 的柠檬烯对玉米象成虫和赤拟谷盗成虫的致死率高达 90%~100%。

Hebeish 等^[27] 的研究表明, 不同浓度柠檬烯对蚊虫的驱避及杀灭作用, 会随着药剂浓度和处理时间的增加而增强。此外, 已有研究发现, 柠檬

烯与其他农药或者精油联合使用, 可以增强其杀虫活性。柠檬烯与植物油按不同体积比配制成的 80%、85% 和 90% 柠檬烯混合油剂, 对红火蚁 *Solenopsis invicta* 卵、蛹、工蚁和有翅繁殖蚁等均具有较好的毒杀作用^[28]。Liang 等^[29] 研究发现, 柠檬烯和芳樟醇 (linalool) 对赤拟谷盗均表现出了不同程度的熏蒸活性, 将两者按体积比 7 : 1 混配后, 对赤拟谷盗成虫的急性接触毒性具有协同增效作用。柠檬烯商业制剂 (Orange Guard, 柠檬烯含量 5.8%) 对角蝇 *Haemato biarritans* 具有更高的活性, 当商业制剂中柠檬烯为 5.8% 时, 该柠檬烯制剂对角蝇卵的致死率是 5.8% 柠檬烯的 2 倍多, 推测可能是由于制剂中的香茅醇 (citronellol) 和月桂烯 (myrcene) 等活性物质与柠檬烯产生了协同作用^[30]。此外, 将柠檬烯与吡虫啉 (imidacloprid)、丁氟螨酯 (cyflumetofen) 及虫螨腈 (chlorfenapyr) 等杀虫剂复配, 对昆虫防治具有减量增效作用^[31]。综上所述, 柠檬烯与精油或化学农药复配可以增强其杀虫活性, 但对于其联合使用的具体增效情况及机理目前还没有较为深入的研究。

现有研究表明, 柠檬烯可作用于害虫的多个靶标位点。柠檬烯能够抑制害虫感觉神经和运动神经的自发性动作, 使得害虫出现抽搐、身体失衡等症状进而导致其死亡^[32]。柠檬烯还可以通过破坏昆虫体壁蜡质层, 导致水分丧失和气孔堵塞, 诱导氧化应激反应使得昆虫死亡^[5]。此外, 柠檬烯精油能够作用于昆虫的线粒体, 通过抑制线粒体相关酶的活性, 干扰线粒体复合体中的电子传递进而起到杀虫作用^[33]。Marrs 等^[34] 研究发现, 柠檬烯及其精油还能够作用于昆虫神经系统中的乙酰胆碱酯酶, 通过破坏突触后连接膜干扰神经电流, 抑制神经递质传导从而对害虫产生毒性作用。Gadelhaq 等^[35] 的研究也表明, 柠檬烯等单萜类化合物能够抑制乙酰胆碱酯酶的活性, 且其中具有烯丙基甲基的化合物对乙酰胆碱酯酶的抑制活性更强。

2.2 杀螨活性

除具有杀虫活性外, 柠檬烯对螨虫也有一定的防治效果 (表 1)。研究发现, 柠檬烯对柑橘全爪螨 *Panonychus citri* 的防治效果突出, 可以显著抑制柑橘全爪螨卵的孵化, 并影响孵化后幼螨的存活率, 柠檬烯对雌成螨的 24 h LC_{50} 值为 541.07 $\mu\text{g/mL}$, 对若螨的 24 h LC_{50} 值为 630.45 $\mu\text{g/mL}$,

对卵的 48 h LC_{50} 值为 231.73 $\mu\text{g/mL}$, 抑制雌成螨产卵的 72 h EC_{50} 值为 54.19 $\mu\text{g/mL}$ ^[36]。胡军华等^[37]研究发现, 柑橘提取物中的 5 种主要成分(柠檬烯、柠檬醛、4-松油醇、芳樟醇及 β -蒎烯)对柑橘全爪螨均具有触杀活性, 其中柠檬烯对柑橘全爪雌成螨、若螨及卵的毒力最强, 24 h LC_{50} 值分别为 59.2、230 和 65.8 $\mu\text{g/mL}$ 。Badawy 等^[38]的研究还发现, 在柠檬烯、胡薄荷酮、垂枝红千层精油、牛至精油对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 的接触毒力和熏蒸毒力中, 熏蒸的毒力作用要高于接触毒力, 柠檬烯对二斑叶螨的熏蒸毒力和接触毒力 LC_{50} 值分别为 10.35 $\mu\text{g/mL}$ 和 50.95 $\mu\text{g/mL}$ 。在柠檬烯、月桂烯及芳樟醇等 12 种单萜类物质中, 柠檬烯对二斑叶螨具有显著的活性, 其对二斑叶螨的熏蒸毒力和接触毒力 LC_{50} 值分别为 8.09 $\mu\text{g/mL}$ 和 255.44 $\mu\text{g/mL}$ ^[39]。可见, 柠檬烯对螨生长的各个阶段都具有一定的防治效果。

在将柠檬烯及其精油用于防治害螨的同时, 还应注意评估其对非靶标生物的毒性。Ellis 等^[40]研究发现, 柠檬烯对蜜蜂气管螨 *Acari: Tarsonemidae* 具有显著的熏蒸毒力, 但其对宿主蜜蜂的毒性大于对气管螨的毒性。此外, Roh 等^[41]发现, 5 种桃金娘科植物精油(主要成分为 1,8-桉叶素、柠檬烯和 α -蒎烯)对菜豆叶片上二斑叶螨成螨的产卵数量没有影响, 但是能够通过其毒杀活性及驱避活性减少雌成螨的数量, 进而影响叶片上的总产卵数, 同时该研究还发现, 1% 的精油会对植物产生毒害, 导致叶片部分坏死。可见, 在将柠檬烯及其植物精油作为杀螨剂使用时, 应同时评估其对环境昆虫和植物的毒性效应。

目前的研究表明, 柠檬烯及其精油杀螨与杀虫作用的机理相似, 主要通过作用于神经系统的乙酰胆碱酯酶而发挥其活性^[5, 42]。此外, 柠檬烯及其精油的熏蒸毒力高于接触毒力, 分析可能是由于这些挥发性精油不仅能够通过空气渗透作用进入昆虫体内, 同时还能通过呼吸系统进入虫体, 进而产生更显著的毒性反应^[43]。Regnault-Roger 等^[44]的研究还发现, 多种精油混合使用能够改变螨体表的表面张力, 促进药剂渗透并破坏螨的角质层, 进而起到杀螨作用。

目前, 针对柠檬烯对螨作用机理的研究还较少, 柠檬烯及其精油中不同成分对螨类的作用靶标也可能不同, 因此需要进一步明确精油中每种

活性物质的具体抑制作用和机理, 以使其更好地发挥杀螨活性。

2.3 除草活性

近年来, 具有除草活性的植物次生代谢产物是研究和开发生物源除草剂的重要来源^[45-47]。已有研究表明, 柠檬烯及其精油具有广谱的除草活性, 能够通过影响种子活力、种子萌发、幼苗生长等方式而抑制杂草的生长^[45]。以柠檬烯和芳樟醇为主要成分的不同浓度(5、10、15 和 20 $\mu\text{L/mL}$)佛手柑精油能够显著抑制反枝苋 *Amaranthus retroflexus* L.、田旋花 *Convolvulus arvensis* L. 和皱叶酸模 *Rumex crispus* L. 3 种杂草的发芽和根系生长, 并且对杂草萌发和幼苗生长的抑制效应随着精油浓度的增加而增强, 20 $\mu\text{L/mL}$ 的佛手柑精油可以完全抑制反枝苋的发芽和根系生长^[48]。Amri 等^[49]的研究发现, 石松精油(柠檬烯含量 54.1%)比化学除草剂 2,4-D 异辛酯对杂草的抑制作用更显著, 2 $\mu\text{L/mL}$ 的石松精油能够完全抑制野芥 *Sinapis arvensis* L.、硬直黑麦草 *Lolium rigidum* 和野萝卜 *Raphanus raphanistrum* 3 种杂草的发芽、幼苗生长和种子活力, 而相同浓度的 2,4-D 异辛酯处理仅能降低种子的发芽速度及减缓幼苗生长。Fagodia 等^[50]研究了柠檬烯对细藨草 *Phalaris minor*、燕麦 *Avena fatua* 和稗 *Echinochloa crus-galli* 的抑制作用, 发现柠檬烯对细藨草抑制作用最显著, 柠檬烯质量浓度大于 100 和 500 $\mu\text{g/mL}$ 时即能显著抑制细藨草胚芽鞘和根的生长, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 柠檬烯对燕麦胚芽鞘和根系生长的抑制率均为 70%, 对稗胚芽鞘和根系生长的抑制率分别为 55% 和 10%。相关研究表明, 柠檬烯及其精油对不同杂草幼苗和根的抑制效应均具有剂量依赖性。

精油的组成成分与其除草活性密切相关。Blazquez 等^[51]采用柠檬精油(含柠檬烯 59.28%)处理杂草马齿苋 *Portulaca oleracea* L. 种子后, 发现在无土栽培和土壤栽培条件下, 该柠檬精油都不会抑制种子的萌发, 认为精油中的其他活性成分可能干扰了柠檬烯抑制作用的发挥。Shao 等^[52]的研究则发现, 意大利苍耳精油对黑麦草 *Lolium multiflorum* 的抑制作用并非仅由于其主要成分柠檬烯(51.61%), 而很可能是通过与精油中其他成分, 如大根香叶烯 B(6.98%)、杜松醇(5.94%)、蒎烯(5.23%)、石竹烯(5.10%) 和乙酸龙脑酯

(3.15%)等活性成分的协同作用而实现的。因此,在研究不同成分精油的除草活性时,需要分别评价其对不同品种杂草的抑制效应。

研究表明,柠檬烯及其精油可能是通过影响植物的线粒体功能和细胞膜的完整性,诱导植物产生氧化应激反应进而抑制植物的生长。Scrivanti等^[53]研究发现,柠檬烯能够诱导多种作物产生脂质过氧化作用,进而抑制玉米根系的伸长、莴苣种子发芽和幼苗的生长。柠檬烯还能作用于植物线粒体,通过抑制呼吸链电子传递、诱导氧化应激反应及破坏细胞膜的完整性,进而抑制莴苣、苋菜、小麦等作物的根部和幼苗的生长^[54-55]。柠檬烯对线粒体的氧化代谢具有较高的抑制活性,但此类单萜烯化合物的化学结构和溶解度可能也会影响其对植物的抑制效果,其中具有较强亲脂性的柠檬烯对种子萌发和根生长的抑制作用低于水溶性更强的含氧单萜樟脑和桉脂醇^[56-57]。

综上,进一步研究柠檬烯及其精油除草活性的作用机制和准确靶标,可为柠檬烯以及其他萜烯类植物源农药的开发与应用提供理论基础。

2.4 杀真菌活性

研究表明,柠檬烯以及含有柠檬烯的植物精油对病原真菌也具有一定的抑制作用(表2)。Marei等^[58]研究发现,柠檬烯等12种单萜烯类化合物对立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*、尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*、指状曲霉 *Penicillium digitatum* 和黑曲霉 *Aspergillus niger* 具有一定的抑制活性,其中柠檬烯对立枯丝核菌、尖孢镰刀菌的抑制作用不显著,对指状曲霉和黑曲霉的抑制活性则比较明显,EC₅₀值分别为72.98、153.2、26.83和38.04 μg/mL。Sedeek等^[59]的研究也发现,400 μL/mL的柚子精油和橙子精油(柠檬烯含量分别为97.51%和96.71%)对齐整小核菌 *Sclerotium rolfsii*、尖孢镰刀菌、半裸镰刀菌 *F. semitectum*、灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 和立枯丝核菌5种病原真菌生长的抑制率高达70%~100%。石松精油(柠檬烯含量54.1%)对包括燕麦镰刀菌 *F. avenaceum*、黄色镰刀菌 *F. culmorum*、胶孢镰刀菌 *F. subglutinans* 及尖孢镰刀菌等在内的10种病原真菌的生长均具有显著的抑制作用,其中,4 μL/mL的石松精油对供试病原真菌的抑制率在38.5%~63.7%之间^[49]。0.5%~2.0%的柠檬精油(柠檬烯含量48.3%)能够完全抑制禾谷镰刀

菌 *F. graminearum* 的生长^[60],4 μL/mL和8 μL/mL的洒神菊树精油(柠檬烯含量10.5%)对禾谷镰刀菌的抑制率分别为49.5%和57.1%^[61]。研究发现,5%柠檬烯可溶液剂对禾谷镰刀菌的EC₅₀值为1.40 μL/mL^[62]。Chang等还发现,台湾肖楠精油(柠檬烯含量21.6%)也具有广谱的抗真菌活性,其对尖孢镰刀菌、立枯丝核菌、枯斑拟盘多毛孢菌 *Pestalotiopsis funerea*、炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides*、南方灵芝菌 *Ganoderma australe*、茄病镰刀菌 *F. solani* 的抑制率在15%~65%之间,其中对枯斑拟盘多毛孢菌和茄病镰刀菌的抑制作用较好^[63]。此外,叙利亚芸香精油(柠檬烯含量4.19%)对禾谷镰刀菌、黄色镰刀菌、层出镰刀菌 *F. proliferatum*、串珠镰刀菌 *F. moniliforme* 和假禾谷镰刀菌 *F. pseudograminearum* 均具有一定的抑制活性,5 μL/mL精油即能够完全抑制黄色镰刀菌的生长,10、15和20 μL/mL的精油则分别能够完全抑制假禾谷镰刀菌、层出镰刀菌和禾谷镰刀菌的生长^[64]。综上可见,柠檬烯及其精油对于多种病原真菌均具有显著的抑制活性。

研究还表明,柠檬烯及其精油不仅具有直接的抑菌活性,对病原真菌的毒素合成也具有显著的抑制作用。0.075 μL/mL的柠檬烯能够显著抑制拟轮枝镰刀菌 *F. verticillioides* 的生长,同时可抑制其伏马菌素(FB1)的合成^[65]。5%柠檬烯可溶液剂对禾谷镰刀菌产生的脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)毒素的合成具有显著的抑制作用,0.20 μL/mL的柠檬烯可溶液剂能够显著抑制DON毒素的合成以及毒素合成相关基因 *TRI1*、*TRI4*、*TRI5*、*TRI6*、*TRIII* 和 *TRII01* 的表达^[62]。肉桂、牛至和柠檬草复合精油(柠檬烯含量4.29%)能够抑制黄曲霉毒素B1的产生,并可通过降低毒素合成相关基因 *AflT*、*AflD*、*AflP*、*AflM* 和 *AflS* 的表达进而抑制黄曲霉毒素的合成^[66-67]。玉米贮藏过程中容易受到禾谷镰刀菌及其毒素的污染,Kalagatur等^[68-69]研究发现,依兰精油(柠檬烯含量6.40%)和圣罗勒精油(柠檬烯含量3.73%)能够显著抑制禾谷镰刀菌的生长,3.9 mg/g的依兰精油对镰刀菌产生的DON毒素和玉米赤霉烯酮(ZEA)毒素均具有显著的抑制作用^[68],圣罗勒精油能够通过降低毒素合成相关基因 *PKS4* 和 *PKS13* 的表达进而抑制ZEA毒素的合成,1500 μg/mL的圣罗勒精油能够显著抑制ZEA毒素的产生^[69]。综上可见,柠檬烯

及其精油对病原真菌及其毒素合成具有一定的抑制作用, 在预防和控制粮食及饲料储藏过程中的真菌毒素污染方面也具有潜在的应用价值。

研究发现, 柠檬烯及其精油能够作用于病原真菌的多个靶标位点, 通过破坏真菌细胞壁和细胞膜的结构和完整性, 调控 ATP 酶活性等, 进而抑制真菌的生长^[5, 70]。麦角甾醇是真菌细胞膜及其生物合成的必需化合物, 柠檬烯及其精油可以干扰病原菌麦角甾醇的合成进而影响真菌的细胞结构和生长^[5]。研究还发现, 柠檬烯及其精油能够干扰多种与真菌线粒体相关的功能酶(苹果酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶和乳酸脱氢酶等)的活性, 影响真菌的 ATP 酶活性和 ATP 水平, 进而干扰细胞黏附性、胞内 pH 值和离子含量, 影响真菌细胞膜的完整性和渗透性, 最终干扰真菌的正常代谢和生长^[58, 70]。比如, Ma 等^[71]研究发现, 苜蓿籽精油(柠檬烯含量 32.63%)能够抑制油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 麦角甾醇的合成, 同时抑制其苹果酸脱氢酶和琥珀酸脱氢酶的活性, 进而影响菌核的形态结构和菌丝正常生长。Zhang 等^[72]的研究表明, 柠檬草精油(柠檬烯含量 1.77%)能够作用于燕麦镰刀菌的细胞膜, 提高其质膜渗透性而使得菌体蛋白质和可溶性糖泄漏, 同时抑制其果胶甲基半乳糖醛酸酶的活性, 进而抑制菌丝生长并降低病原菌的致病性。5% 柠檬烯可溶液剂能够引起禾谷镰刀菌的菌丝断裂和收缩, 通过破坏细胞膜、细胞壁、液泡和细胞器结构, 干扰能量代谢途径进而抑制真菌的生长^[62]。

综上所述, 柠檬烯及其精油能够通过多种作用方式抑制病原菌的生长。因此, 深入研究柠檬烯及其精油中主要成分对病原菌的抑菌及抑毒机制, 可为柠檬烯在病原菌生物防治领域的进一步应用提供科学依据。

3 柠檬烯制剂研究及应用进展

在农业农村部提出“农药零增长”行动方案的背景下, 开发高效、安全、低残留的农药及其剂型已成为绿色农药创新发展的必然趋势。柠檬烯作为一种广泛存在于柑橘类精油中的植物次生代谢物, 已成为植物源农药开发的重要来源之一。据查询中国农药信息网 (<http://www.icama.org.cn/zwb/dataCenter/>) (截至 2023 年 8 月), 柠檬烯现有登记剂型主要是 D-柠檬烯原药以及 D-柠檬烯可溶

液剂。2018 年, 葡萄牙奥罗阿格瑞国际有限公司登记了 92% D-柠檬烯原药作为杀虫剂, 同时登记了 5% D-柠檬烯可溶液剂用于防治烟粉虱、红蜘蛛以及炭疽病、灰霉病和白粉病。我国的青岛日晟源作物营养有限公司于 2021 年登记了 93% D-柠檬烯原药作为杀虫剂, 并登记了 18% D-柠檬烯可溶液剂用于防治烟粉虱。多个研究表明, 柠檬烯及其精油具有杀虫、杀螨、除草和杀真菌活性, 但由于柠檬烯具有挥发性, 易受氧、光照以及温度等因素的影响而发生氧化, 因而限制了其在农业领域中的登记和应用。

近年来, 纳米技术为现代化农业高效生产和可持续发展提供了强有力的技术支撑, 为传统农业和农药向高效化、绿色化、智能化转型提供了新的机遇和前景^[73-74]。如何充分利用纳米材料与技术发展纳米农药新剂型, 是农药应用领域研究热点之一, 也是当前提高农药利用率、降低环境污染等问题的重要且有前景的发展方向^[75-77]。研究表明, 采用纳米材料构建的纳米载药系统在提高柠檬烯等植物源农药的生物活性、田间持效期以及稳定性中发挥了重要的作用^[6, 78-79]。目前, 我国还没有与植物源农药相关的纳米剂型取得登记, 国外已有一些商业化销售的植物源农药纳米制剂产品, 例如英国 Eden Research 公司研发的 Melavone 制剂和 Cedroz 制剂。Melavone 制剂的主要活性成分包括丁香酚、香叶醇和百里香酚 3 种萜烯, 可防治多种作物上的灰霉病; 而 Cedroz 制剂(主要成分为萜烯)可用于防治果蔬中的根结线虫。二者均采用 Sustaine™ 微胶囊封装技术, 有效改善了活性成分萜烯的生物活性、控制其挥发性并提高了对作物的安全性。目前上述 2 种植物源农药纳米制剂已在欧美多个国家获得登记批准 (<https://www.edenresearch.com/>)。可见, 借助纳米技术可进一步提高植物源农药的生防效果和稳定性, 有助于开发更多有潜力的新制剂和新产品, 进而促进植物源农药及其纳米制剂在植物保护领域中有更好的应用前景。

3.1 柠檬烯纳米制剂类型

现有研究表明, 可将柠檬烯制备成纳米乳液, 以增加其稳定性进而提高对植物病虫害的防治效果^[20]。目前纳米乳的制备方法主要有高能乳化法和低能乳化法, 通过不同途径使水、油和乳化剂混合形成微小的球形液滴, 使其在质地、

稳定性和生物活性等方面表现出更好的功效^[80]。此外,还可采用脂质载体、无机纳米载体、多糖等材料对柠檬烯及其精油进行封装,通过载体负载以提高其活性成分的稳定性,起到保护和缓释作用,进而提高柠檬烯及其精油的利用率。其中,脂质载体是以磷脂和胆固醇等构成的双分子微囊,具有无毒、生物相容性好、可降解、可改善被包埋物理性质等特点,其应用相当广泛,是天然抗菌物质传递和控制释放的有效介质^[81]。可用于负载柠檬烯的无机纳米载体则包括目前研究较多的多孔二氧化硅(SiO₂)纳米粒子,其具有高表面积、大容积及孔径尺寸可控等独特优点,能够吸附、固定和传输柠檬烯,还能与纳米结构脂质载体络合用于传递柠檬烯,增强活性成分的稳定性并控制其释放速率^[77, 82]。此外,将壳聚糖等天然多糖类高分子用作纳米载体,将柠檬烯或其精油制备成微囊悬浮剂,也可以提高柠檬烯及其精油的稳定性和生物活性^[20]。目前,柠檬烯纳米制剂在杀虫、杀螨和杀真菌中均已有一定的研究和应用,但在除草活性方面的相关报道还较少。

3.2 柠檬烯纳米制剂在杀虫杀螨中的应用

研究表明,将柠檬烯制备成纳米乳和纳米脂质体能够增强柠檬烯原有的杀虫及杀螨活性。Lima等^[83]的研究表明,将柠檬烯、 α -蒎烯及 β -蒎烯制备成纳米乳后,在提高精油混溶性的同时可保持精油对赤拟谷盗的驱避活性,且其中柠檬烯纳米乳的活性最强,浓度为1.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 时即具有显著的驱避作用。Badawy等^[38-39]的研究还发现,柠檬烯纳米乳对二斑叶螨的触杀活性高于柠檬烯,处理24 h后,柠檬烯纳米乳和柠檬烯对二斑叶螨的接触毒力LC₅₀值分别为50.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和255.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$,且5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的柠檬烯纳米乳在菜豆上施用2~3 d后,对二斑叶螨的防效可达100%。Theochari等^[84]研究发现,3.8%、5%、8.7%和8.9%的柠檬烯纳米乳对白纹伊蚊*Aedes albopictus*和淡色库蚊*Culex pipiens molestus*幼虫的抑制作用均显著高于柠檬烯,其中8.7%柠檬烯纳米乳的活性最高,对白纹伊蚊和淡色库蚊幼虫的LC₅₀值分别为20.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和23.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$,显著高于柠檬烯非纳米制剂的LC₅₀值(36.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和32.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。此外,柠檬烯对斯氏按蚊*Anopheles stephensi*和致倦库蚊*C. quinquefasciatus*的LC₅₀值分别为20.12

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 和16.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$,而柠檬烯纳米脂质体对斯氏按蚊和致倦库蚊的抑制作用显著增强,LC₅₀值分别降低至13.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和6.41 $\mu\text{g}/\text{mL}$,活性分别提高了1.5和2.5倍^[85]。Abdel-Kawy等^[86]研究发现,封装后的纳米立方液晶枸橼精油(柠檬烯含量78.46%)对棉贪夜蛾*Spodoptera littoralis*二龄幼虫的抑制效果显著,采用20 $\mu\text{L}/\text{g}$ 的枸橼精油处理棉贪夜蛾二龄幼虫,24 h后的致死率为100%,而4 $\mu\text{L}/\text{g}$ 的纳米立方液晶枸橼精油对幼虫的致死率即可达到100%,即通过纳米封装后枸橼精油的杀虫活性提高了5倍。

综上所述,将柠檬烯及其精油制备成纳米乳液、纳米脂质体或纳米结构化液晶颗粒,能够明显提高其生物活性,这可能是由于纳米封装后的柠檬烯及其精油颗粒具有独特的尺寸效应和表面效应,可以增加与虫螨的接触面积,更容易渗透至虫体内,进而使得其杀虫活性显著提高^[20]。

3.3 柠檬烯纳米制剂在植物病原真菌防治中的应用

现有研究表明,柠檬烯纳米乳液和纳米脂质体,以及基于壳聚糖、介孔SiO₂、纳米立方液晶和六角脂质体纳米封装的柠檬烯精油,均能提高柠檬烯对病原真菌的抑制活性。Feng等^[87]研究发现,将柠檬烯制备成纳米乳液后,对水稻稻瘟病菌*Pyricularia oryzae*、桃拟茎点霉*Phomopsis amygdali*、立枯丝核菌及胶胞炭疽菌的抑制效果(抑制率)可提高1.5~2.2倍。柠檬烯纳米脂质体对灰霉病菌*Botrytis cinerea*、产黄青霉*P. flavescens*具有显著的抑制作用,50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的柠檬烯纳米脂质体可完全抑制灰霉病菌孢子的萌发,并可明显延缓蓝莓贮存过程中由霉菌引起的腐烂,延缓率比柠檬烯处理组提高了22%^[88]。Sedeek等^[59]研究发现,将柠檬精油(柠檬烯含量44.36%)制备成六角脂质体纳米结构化液晶颗粒后,对链格孢菌*Alternaria alternata*的抑制活性提高了近2.5倍,其EC₅₀值从229.10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 降低到95.54 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。Abdel-Kawy等^[86]发现,封装后的纳米立方液晶枸橼精油(柠檬烯含量78.46%)对茄病镰刀菌和尖孢镰刀菌的抑制作用显著提高,EC₅₀值分别从13.1和11.0 $\mu\text{L}/\text{g}$ 降低到8.30和7.00 $\mu\text{L}/\text{g}$ 。此外,采用介孔SiO₂负载的纳米薄荷精油(柠檬烯含量4.9%)对灰霉病菌的抑制活性显著增强,100、1000、1500和2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的纳米精油对菌丝的抑

表 1 柠檬烯及其精油的杀虫杀螨活性

Table 1 Insecticidal and acaricidal activity of limonene and its essential oil

主要来源 Source	作用对象 Targeted insect	生物活性 Biological activity	参考文献 Reference
柠檬烯 limonene	胞囊线虫 <i>Heterodera schachtii</i>	具有一定的触杀活性, 100 $\mu\text{g/mL}$ 柠檬烯处理甜菜幼苗 3 个月后, 胞囊线虫数量比空白对照组减少 3% Nematicidal activity, <i>H. schachtii</i> population was reduced to less than 3% of the control after treatment of the sugarbeet seedlings with 100 $\mu\text{g/mL}$ limonene for 3 months	[21]
	柑橘全爪螨 <i>Panonychus citri</i>	抑制螨卵的孵化, 对螨卵 48 h 的 LC_{50} 值为 231.73 $\mu\text{g/mL}$, 抑制雌成螨产卵的 72 h EC_{50} 值为 54.19 $\mu\text{g/mL}$; 对雌成螨和若螨的 24 h LC_{50} 值分别为 541.07 $\mu\text{g/mL}$ 和 630.45 $\mu\text{g/mL}$ Inhibition on spawning, the 48 h LC_{50} value to the egg was 231.73 $\mu\text{g/mL}$, the oviposition inhibition to females had the 72 h EC_{50} value of 54.19 $\mu\text{g/mL}$, the 24 h LC_{50} value for females and deutonymph was 541.07 $\mu\text{g/mL}$ and 630.45 $\mu\text{g/mL}$, respectively	[36]
		对雌成螨、若螨、螨卵的 24 h LC_{50} 值分别为 59.2、230 和 65.8 $\mu\text{g/mL}$ The 24 h LC_{50} value for female adult, nymph and egg was 59.2, 230 and 65.8 $\mu\text{g/mL}$, respectively	[37]
	二斑叶螨 <i>Tetranychus urticae</i>	熏蒸活性高于触杀活性, LC_{50} 值分别为 8.09 $\mu\text{g/mL}$ 和 255.44 $\mu\text{g/mL}$ Higher fumigation activity than contact activity, the LC_{50} value was 8.09 $\mu\text{g/mL}$ and 255.44 $\mu\text{g/mL}$, respectively	[39]
	赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	具有较好的熏蒸活性, 12.5、25 和 50 $\mu\text{L/L}$ 柠檬烯对成虫的致死率分别为 68.33%、100% 和 100% Good fumigant effect, the mortality of 12.5, 25 and 50 $\mu\text{L/L}$ limonene to the adult was 68.33%, 100% and 100%, respectively	[26]
	玉米象 <i>Sitophilus zeamais</i>	具有较好的熏蒸活性, 25 $\mu\text{L/L}$ 和 50 $\mu\text{L/L}$ 柠檬烯对玉米象成虫的致死率分别为 90% 和 100% Good fumigant effect, the mortality of 25 and 50 $\mu\text{L/L}$ limonene to the adult was 90% and 100%, respectively	[26]
	白纹伊蚊 <i>Aedes albopictus</i> 淡色库蚊 <i>Culex pipiens molestus</i> 斯氏按蚊 <i>Anopheles stephensi</i> 致倦库蚊 <i>C. quinquefasciatus</i>	对白纹伊蚊和淡色库蚊幼虫的 LC_{50} 值分别为 36 $\mu\text{g/mL}$ 和 32.2 $\mu\text{g/mL}$ The LC_{50} value for the larvae of <i>A. albopictus</i> and <i>C. pipiens molestus</i> was 36 $\mu\text{g/mL}$ and 32.2 $\mu\text{g/mL}$, respectively 对斯氏按蚊和致倦库蚊的 LC_{50} 值分别为 20.12 $\mu\text{g/mL}$ 和 16.36 $\mu\text{g/mL}$ The LC_{50} value for <i>A. stephensi</i> and <i>C. quinquefasciatus</i> was 20.12 $\mu\text{g/mL}$ and 16.36 $\mu\text{g/mL}$, respectively	[84] [85]
牛尾蒿精油 <i>Artemisia dubia</i> essential oil (柠檬烯含量 17.4%) 刺柏叶精油 <i>Juniperus formosana</i> essential oil (柠檬烯含量 11%)	嗜卷书虱 <i>Liposcelis bostrychophila</i>	牛尾蒿精油的熏蒸活性 LC_{50} 值为 0.74 $\mu\text{g/mL}$, 刺柏叶精油的触杀活性 LC_{50} 值为 81.5 $\mu\text{g/mL}$ <i>A. dubia</i> essential oil showed fumigant toxicity with the LC_{50} value of 0.74 $\mu\text{g/mL}$, <i>J. formosana</i> essential oil showed contact activity with the LC_{50} value of 81.5 $\mu\text{g/mL}$	[24-25]
	赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	牛尾蒿精油的熏蒸活性 LC_{50} 值为 49.54 $\mu\text{g/mL}$, 刺柏叶精油的触杀活性 LC_{50} 值为 29.14 $\mu\text{g/mL}$ <i>A. dubia</i> essential oil showed fumigant toxicity with the LC_{50} value of 49.54 $\mu\text{g/mL}$, <i>J. formosana</i> essential oil showed contact activity with LC_{50} value of 29.14 $\mu\text{g/mL}$	[24-25]
八角茴香油 <i>Alpinia officinarum</i> essential oil 高良姜油 <i>Alpinia officinarum</i> essential oil (未注明柠檬烯含量) (limonene content was unknown)	赤拟谷盗 <i>Tribolium castaneum</i>	14.7 $\mu\text{L/L}$ 八角茴香油和高良姜油对赤拟谷盗成虫的 48 h 熏蒸致死率为 100% The 14.7 $\mu\text{L/L}$ <i>I. verum</i> and <i>A. officinarum</i> oil had fumigant effect, the lethality rate was 100% after 48 h exposure	[26]
薄荷油 <i>Mentha haplocalyx</i> essential oil 留兰香油 <i>Mentha spicata</i> essential oil (未注明柠檬烯含量) (limonene content was unknown)	玉米象 <i>Sitophilus zeamais</i>	14.7 $\mu\text{L/L}$ 薄荷油和留兰香油对玉米象成虫 48 h 的熏蒸致死率分别为 100% 和 79.17% The 14.7 $\mu\text{L/L}$ <i>M. haplocalyx</i> and <i>M. spicata</i> oil had fumigant effect, the lethality rate was 100% and 79.17% after 48 h exposure, respectively	[26]
1% 柠檬烯混合溶液 1% limonene aqueous solution	粉蚧 <i>Rhizococcus</i> spp.	采用 1% 柠檬烯混合溶液喷洒或浸渍处理 1 min, 对粉蚧的平均致死率为 69%~100% The average lethality rate of 1% limonene to mealybug ranged from 69% to 100% after spraying or 1-min dipping	[22]
柠檬烯混合油剂 limonene and edible plant oil mixture	红火蚁 <i>Solenopsis invicta</i>	80%、85% 和 90% 柠檬烯混合油剂对红火蚁卵、蛹、工蚁和有翅繁殖蚁等均具有较好的毒杀作用 80%, 85% and 90% of limonene and oil mixtures showed excellent insecticidal effects on the eggs, pupae, workers and reproductive alates of fire ants	[28]
柠檬烯乙醇溶液 limonene ethanol solution	果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	2%、4% 和 6% 的柠檬烯乙醇溶液对果蝇的驱避率分别为 65%、90% 和 100% The repellent rate of 2%, 4% and 6% limonene ethanol solution to drosophila was 65%, 90% and 100%, respectively	[23]

表 2 柠檬烯及其精油的杀真菌活性

Table 2 Antifungal activity of limonene and its essential oil

主要来源 Source	作用对象 Targeted fungus	生物活性 Biological activity	参考文献 Reference
柠檬烯 limonene	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i> 尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i> 指状曲霉 <i>Penicillium digitatum</i> 黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	EC ₅₀ 值分别为 72.98、153.2、26.83 和 38.04 μg/mL The EC ₅₀ value for the fungi was 72.98、153.2、26.83 and 38.04 μg/mL, respectively	[58]
	拟轮枝镰刀菌 <i>F. verticillioides</i>	0.075 μL/mL 的柠檬烯能够显著抑制病原菌的生长及其伏马菌素 FBI 的合成 0.075 μL/mL limonene could significantly inhibit the fungal growth and the synthesis of fumonisin FBI	[65]
5% 柠檬烯可溶液剂 5% limonene SL		EC ₅₀ 值为 1.40 μL/mL, 0.20 μL/mL 下即可显著抑制病原菌脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 毒素合成及毒素相关基因的表达 The EC ₅₀ value was 1.40 μL/mL, and 0.20 μL/mL could significantly inhibit the DON synthesis and transcription of toxin-related genes	[62]
柠檬精油 Lemon essential oil (柠檬烯含量 48.3%) (contain 20% limonene)		0.5%~2.0% 的柠檬精油对禾谷镰刀菌菌丝生长的抑制率为 100% The inhibition rate of 0.5%-2.0% lemon essential oil was 100% to the fungal growth	[60]
酒神菊树精油 <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC (柠檬烯含量 10.5%) (contain 10.5% limonene)	禾谷镰刀菌 <i>F. graminearum</i>	4 μL/mL 和 8 μL/mL 酒神菊树精油对真菌的抑制率分别为 49.5% 和 57.1% The inhibition rates of 4 μL/mL and 8 μL/mL essential oil to fungal growth was 49.5% and 57.1% respectively	[61]
依兰精油 Ylang-Ylang (<i>Cananga odorata</i>) essential oil (柠檬烯含量 6.40%) (contain 6.40% limonene)		3.9 mg/g 依兰精油对 DON 毒素和玉米赤霉烯酮 (ZEA) 毒素的生成具有显著抑制作用 3.9 mg/g Ylang-Ylang essential oil could significantly inhibit the synthesis of DON and ZEA	[68]
圣罗勒精油 <i>Ocimum sanctum</i> L. essential oil (柠檬烯含量 3.73%) (contain 3.73% limonene)		1250 μg/mL 的圣罗勒精油能够抑制禾谷镰刀菌的生长, 1500 μg/mL 可显著抑制其 ZEA 毒素合成 1250 μg/mL essential oil could inhibit the fungal growth, 1500 μg/mL essential oil could inhibit the synthesis of ZEA	[69]
柚子精油、橙子精油及柠檬精油 <i>Citrus maxima</i> , <i>C. sinensis</i> and <i>C. lemon</i> essential oil (柠檬烯含量分别为 97.51%、 96.71% 和 44.36%) (contain 97.51%, 96.71% and 44.36% limonene)	齐整小核菌 <i>Sclerotium rolfsii</i> 尖孢镰刀菌 <i>F. oxysporum</i> 半裸镰刀菌 <i>F. semitectum</i> 灰葡萄孢 <i>Botrytis cinerea</i> 立枯丝核菌 <i>R. solani</i> 链格孢 <i>Alternaria alternata</i>	400 μL/mL 的柚子精油和橙子精油对病原菌菌丝生长的抑制率为 70%~100%, 柠檬精油抑制链格孢菌丝生长的 EC ₅₀ 值为 229.10 μL/mL The inhibition rates of 400 μL/mL <i>C. maxima</i> and <i>C. sinensis</i> peel essential oil to fungal growth ranged from 70% to 100%, and the EC ₅₀ value of <i>C. lemon</i> essential oil to <i>A. alternata</i> was 229.10 μL/mL	[59]
枸橼精油 <i>Citrus trifoliata</i> L. essential oil (柠檬烯含量 78.46%) (contain 78.46% limonene)	茄病镰刀菌 <i>F. solani</i> 尖孢镰刀菌 <i>F. oxysporum</i>	EC ₅₀ 值分别为 13.1 μL/g 和 11.0 μL/g The EC ₅₀ value for <i>F. solani</i> and <i>F. oxysporum</i> was 13.1 μL/g and 11.0 μL/g, respectively	[86]
石松精油 <i>Pinus pinea</i> essential oil (柠檬烯含量 54.1%) (contain 54.1% limonene)	燕麦镰刀菌 <i>F. avenaceum</i> 黄色镰刀菌 <i>F. culmorum</i> 胶孢镰刀菌 <i>F. subglutinans</i> 尖孢镰刀菌 <i>F. oxysporum</i>	4 μL/mL 的石松精油对病原菌菌丝生长的抑制率为 38.5%~63.7% The inhibition rates of 4 μL/mL <i>P. pinea</i> essential oil to fungal growth ranged from 38.5% to 63.7%	[49]
台湾肖楠精油 <i>Calocedrus macrolepis</i> var. <i>formosana</i> essential oil (柠檬烯含量 21.6%) (contain 21.6% limonene)	尖孢镰刀菌 <i>F. oxysporum</i> 立枯丝核菌 <i>R. solani</i> 枯斑拟盘多毛孢菌 <i>Pestalotiopsis funerea</i> 炭疽菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> 南方灵芝菌 <i>Ganoderma australe</i> 茄病镰刀菌 <i>F. solani</i>	对病原菌的抑制率在 15%~65% 之间 The inhibition rates to the fungal growth ranged from 15% to 65%	[63]
叙利亚芸香精油 <i>Ruta chalepensis</i> L. essential oil (柠檬烯含量 4.19%) (contain 4.19% limonene)	黄色镰刀菌 <i>F. culmorum</i> 假禾谷镰刀菌 <i>F. pseudograminearum</i> 层出镰刀菌 <i>F. proliferatum</i> 禾谷镰刀菌 <i>F. graminearum</i>	5、10、15 和 20 μL/mL 的精油分别能完全抑制黄色镰刀菌、假禾谷镰刀菌、层出镰刀菌和禾谷镰刀菌的生长 5, 10, 15 and 20 μL/mL essential oil could inhibit the mycelial growth of <i>F. culmorum</i> , <i>F. pseudograminearum</i> , <i>F. proliferatum</i> and <i>F. graminearum</i>	[64]
肉桂、牛至和柠檬草复合精油 cinnamon, oregano and lemongrass composite essential oils (柠檬烯含量 4.29%) (contain 4.29% limonene)	黄曲霉 <i>Aspergillus flavus</i>	抑制病原菌生长及其黄曲霉毒素 B1 的合成, 降低毒素合成相关基因的表达 Essential oils inhibited the mycelial growth of <i>A. flavus</i> and the synthesis of aflatoxin B1, decreased the transcription of toxin-related genes	[66-67]

制率比未封装精油分别提高了 35.20%、8.12%、10.40% 和 8.15%，并且发现低浓度纳米精油对灰霉病菌的抑制效果更明显^[89]。Guerra 等^[90]采用壳聚糖封装薄荷精油(柠檬烯含量 6.42%)后，发现其可以显著抑制葡萄存储过程中青霉 *P. expansum*、匍枝根霉 *Rhizous stolonifer*、黑曲霉及灰霉病菌的生长，经壳聚糖纳米精油处理后霉菌的感染率从 100% 降至 45%。

研究表明，将柠檬烯及其精油进行纳米封装后，由于纳米乳及纳米载体的高表面积与体积比、更小的粒径，能够控制柠檬烯及其精油的挥发性，并提高其渗透能力、生物利用度和水溶性，使其更容易渗透至病原菌细胞膜内，从而对菌丝生长、细胞结构以及能量代谢产生更显著的影响，进而明显加强其抑菌效果^[88-90]。

4 总结与展望

柠檬烯作为一种广泛存在于柑橘类精油中的植物次生代谢物，因其低毒、不易产生抗药性、对非靶标生物及环境安全等特点，在生物防治农业生产中的虫、螨、杂草以及病原真菌等植物病虫害中得到了广泛研究，在农业绿色防控领域展现出了潜在的应用价值和良好前景。研究表明，柠檬烯除了现有登记的可作为杀虫剂防治烟粉虱和红蜘蛛，以及作为杀菌剂防治炭疽病、灰霉病和白粉病外，还具有开发成防治更多种类病原菌的杀菌剂和除草剂的潜能。此外，纳米技术为柠檬烯及其精油更有效地防治农业病虫害提供了新途径，将柠檬烯及其精油制备成纳米乳液，或与脂质、无机纳米载体、多糖等材料封装负载制备成柠檬烯纳米制剂，可进一步提高柠檬烯及其精油的生物活性、田间持效性以及稳定性，以促进柠檬烯及其精油在农业领域中更广的发展和运用。

目前，国内外针对柠檬烯及其精油的研究已取得一定进展，但其作为生物源农药在农业可持续生产中应用还存在一系列亟待解决的问题。比如，现有多数研究和商业化产品的开发主要集中在含有柠檬烯成分的精油，但实际的防控效果却有可能是柠檬烯和精油中其他活性成分协同作用的结果，因此在开发有效和稳定的该系列植物源农药时，应进一步分析明确柠檬烯和精油中其他生物活性物质的成分组成及理化特性等，以利于

其标准化生产。

研究表明，柠檬烯及其精油对植物病虫害具有多种作用机制，其不同活性物质的作用靶标也可能各不相同，因此需进一步深入研究和明确柠檬烯及其精油中的其他主要活性成分如何与柠檬烯协同作用，进而为柠檬烯及其精油在生物防治领域的应用提供理论基础和科学依据。此外，目前利用纳米技术虽然开发出了多种有潜力的柠檬烯纳米制剂，提高了柠檬烯及其精油的生物活性、稳定性和利用率，但其纳米制剂中的载体材料、有机溶剂、表面活性剂等也可能会产生额外的毒性，并且纳米剂型的环境行为以及对靶标生物的作用方式等也可能会变得更为复杂，因此，目前基于纳米技术发展起来的新制剂所产生的药效变化、抗药性发展以及小尺寸效应等是否会带来新的毒理学效应和风险也有待进一步研究^[91]。现有研究表明，柠檬烯或其纳米制剂与化学农药复配对植物病虫害防治具有减量增效作用，因此在实际生产和应用中，可将柠檬烯与其他植物源农药或化学农药联用，作为增效剂或助剂以提高药剂的防治效果。然而，目前对于柠檬烯及其纳米制剂和化学农药复配的研究还非常有限，需要进一步研究复配混合物不同比例和浓度下的药效、与纳米制剂中载体材料的潜在相互作用，以及柠檬烯及其精油与化学农药协同后的环境化学行为、毒理学机制和环境风险等，进而为柠檬烯及其精油作为生物源农药在植物病虫害绿色防控中的推广应用提供理论基础和科学依据。

参考文献 (References):

- [1] 袁善奎, 王以燕, 师丽红, 等. 我国生物源农药标准制定现状及展望 [J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(1): 1-7.
YUAN S K, WANG Y Y, SHI L H, et al. Current situation and prospects of biological pesticides related standards in China[J]. Chin J Biol Control, 2018, 34(1): 1-7.
- [2] 郭明程, 王晓军, 苍涛, 等. 我国生物源农药发展现状及对策建议 [J]. 中国生物防治学报, 2019, 35(5): 755-758.
GUO M C, WANG X J, CANG T, et al. Status and strategic measures for the development of biopesticides in China[J]. Chin J Biol Control, 2019, 35(5): 755-758.
- [3] 杨峻, 侯燕华, 林荣华, 等. 我国生物农药登记品种清单式管理初探 [J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(4): 812-820.
YANG J, HOU Y H, LING R H, et al. Primary study on the list management of registered varieties of biopesticides in China[J]. Chin J Biol Control, 2022, 38(4): 812-820.
- [4] 马迪成, 窦道龙, 刘峰. 植物挥发性有机化合物在农业病害防控中

- 的潜能与应用[J]. 农药学学报, 2022, 24(4): 682-691.
- MA D C, DOU D L, LIU F. Potential and application of plant volatile organic compounds in agricultural disease control[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2022, 24(4): 682-691.
- [5] DASSANAYAKE M K, CHONG C H, KHOO T J, et al. Synergistic field crop pest management properties of plant-derived essential oils in combination with synthetic pesticides and bioactive molecules: a review[J]. *Foods*, 2021, 10(9): 2016.
- [6] DAS S, GHOSH A, MUKHERJEE A. Nanoencapsulation-based edible coating of essential oils as a novel green strategy against fungal spoilage, mycotoxin contamination, and quality deterioration of stored fruits: an overview[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 768414.
- [7] RAVICHANDRAN C, BADGUJAR P C, GUNDEV P, et al. Review of toxicological assessment of *d*-limonene, a food and cosmetics additive[J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 120: 668-680.
- [8] IBÁÑEZ M D, SANCHEZ-BALLESTER N M, BLÁZQUEZ M A. Encapsulated limonene: a pleasant lemon-like aroma with promising application in the agri-food industry. A review[J]. *Molecules*, 2020, 25(11): 2598.
- [9] 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- National food safety standard, food additive usage standard: GB 2760—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2015.
- [10] VIEIRA A J, BESERRA F P, SOUZA M C, et al. Limonene: aroma of innovation in health and disease[J]. *Chem-Biol Interact*, 2018, 283: 97-106.
- [11] ANANDAKUMAR P, KAMARAJ S, VANITHA M K. *D*-limonene: a multifunctional compound with potent therapeutic effects[J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(1): e13566.
- [12] ALSAFFAR R M, RASHID S, AHMAD S B, et al. *D*-limonene (5 (one-methyl-four-[1-methylethenyl]) cyclohexane) diminishes CCl₄-induced cardiac toxicity by alleviating oxidative stress, inflammatory and cardiac markers[J]. *Redox Rep*, 2022, 27(1): 92-99.
- [13] HEYDARI KOOCHI Z, JAHROMI K G, KAVOOSI G, et al. Citrus peel waste essential oil: chemical composition along with anti-amylase and anti-glucosidase potential[J]. *Int J Food Sci Tech*, 2022, 57(10): 6795-6804.
- [14] EDDIN L B, JHA N K, MEERAN M F N, et al. Neuroprotective potential of limonene and limonene containing natural products[J]. *Molecules*, 2021, 26(15): 4535.
- [15] NIEDOBOVÁ J, SKALSKÝ M, OUŘEDNÍČKOVÁ J, et al. Synergistic effects of glyphosate formulation herbicide and tank-mixing adjuvants on *Pardosa* spiders[J]. *Environ Pollut*, 2019, 249: 338-344.
- [16] 刘雅倩, 刘珍秀, 高波, 等. 柠檬烯在农药领域的应用进展[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(8): 24-28,69.
- LIU Y Q, LIU Z X, GAO B, et al. Application progress of limonene in pesticide[J]. *China Plant Prot*, 2019, 39(8): 24-28,69.
- [17] National Center for Biotechnology Information. PubChem compound summary for CID 440917, *D*-limonene[DB/OL]. [2023-04-05]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/D-Limonene>. Accessed Dec.5, 2022.
- [18] DUETZ W A, BOUWMEESTER H, VAN BEILEN J B, et al. Biotransformation of limonene by bacteria, fungi, yeasts, and plants[J]. *Appl Microbiol Biot*, 2003, 61(4): 269-277.
- [19] SIDDIQI S A, PAHMEYER M J, ASSADPOUR E, et al. Extraction and purification of *d*-limonene from orange peel wastes: recent advances[J]. *Ind Crops Prod*, 2022, 177: 114484.
- [20] AKHAVAN-MAHDAVI S, SADEGHI R, FARIDI ESFANJANI A, et al. Nanodelivery systems for *d*-limonene: techniques and applications[J]. *Food Chem*, 2022, 384: 132479.
- [21] IBRAHIM M A, KAINULAINEN P, AFLATUNI A, et al. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests[J]. *Agric Food Sci Finl*, 2001, 10(3): 243-259.
- [22] HOLLINGSWORTH R G. Limonene, a citrus extract, for control of mealybugs and scale insects[J]. *J Econ Entomol*, 2005, 98(3): 772-779.
- [23] 张仁芳, 金阳, 施关林. 橘皮主要成分 *D*-柠檬烯的生物活性[J]. 浙江农业科学, 2013(1): 73-74.
- ZHANG R F, JIN Y, SHI G L. Biological activity of *D*-limonene, the main component of orange peel[J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 2013(1): 73-74.
- [24] LIANG J Y, GUO S S, ZHANG W J, et al. Fumigant and repellent activities of essential oil extracted from *Artemisia dubia* and its main compounds against two stored product pests[J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(10): 1234-1238.
- [25] GUO S S, ZHANG W J, LIANG J Y, et al. Contact and repellent activities of the essential oil from *Juniperus formosana* against two stored product insects[J]. *Molecules*, 2016, 21(4): 504.
- [26] 杨杉. 植物精油熏蒸杀虫活性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- YANG S. Study on fumigation activities of plant essential oil to stored grain pest [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008.
- [27] HEBEISH A, FOUADA M M G, HAMDY I A, et al. Preparation of durable insect repellent cotton fabric: limonene as insecticide[J]. *Carbohydr Polym*, 2008, 74(2): 268-273.
- [28] 伦演鹏, 田伟金, 杨悦屏, 等. *d*-柠檬烯混合油剂对红火蚁的毒力及灭巢效果[J]. 广东农业科学, 2016, 43(7): 93-99.
- LUN Y P, TIAN W J, YANG Y P, et al. Toxicity and individual mound treatment effect of *d*-limonene on red imported fire ant (*Solenopsis invicta* Buren)[J]. *Guangdong Agric Sci*, 2016, 43(7): 93-99.
- [29] LIANG J Y, AN Y, HOU Z B, et al. Acute toxicity of *Zanthoxylum bungeanum* against two stored product insects and synergistic interactions between two major compounds limonene and linalool[J]. *J Environ Sci Heal B*, 2022, 57(9): 739-744.
- [30] SHOWLER A T, HARLIEN J L, DE LÉON A A P. Effects of laboratory grade limonene and a commercial limonene-based insecticide on *Haematobia irritans irritans* (Muscidae: Diptera): deterrence, mortality, and reproduction[J]. *J Med Entomol*, 2019, 56(4): 1064-1070.
- [31] 王芳, 刘畅, 何嘉, 等. 植物精油 *d*-柠檬烯对吡虫啉增效作用及其机制[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(11): 23-25.
- WANG F, LIU C, HE J, et al. dSynergism of essential oil *d*-limonene with imidacloprid and its mechanisms[J]. *China Plant Prot*, 2019, 39(11): 23-25.
- [32] KARABORKLU S, AYVAZ A. A comprehensive review of effective essential oil components in stored-product pest management[J]. *J Plant Dis Protect*, 2023, 130(3): 449-481.
- [33] DUQUE J E, URBINA D L, VESGA L C, et al. Insecticidal activity of essential oils from American native plants against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): an introduction to their possible mechanism of action[J]. *Sci Rep-Uk*, 2023, 13(1): 1-15.

- [34] MARRS T C, MAYNARD R L. Neurotransmission systems as targets for toxicants: a review[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2013, 29(6): 381-396.
- [35] GADELHAQ S M, ABOELHADID S M, ABDEL-BAKI A A S, et al. *D*-limonene nanoemulsion: lousicidal activity, stability, and effect on the cuticle of *Columbicola columbae*[J]. *Med Vet Entomol*, 2023, 37(1): 63-75.
- [36] 张肖肖. *d*-柠檬烯与杀螨剂复配对柑橘全爪螨的防控作用[D]. 广州, 华南农业大学, 2018.
ZHANG X X. Study on the activity of *d*-limonene in the control of *Panonychus citri* McGregor.[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018.
- [37] 胡军华, 彭风格, 王娟, 等. 柑桔提取物中主要成分的杀螨活性评价[J]. 应用昆虫学报, 2016, 53(1): 95-102.
HU J H, PENG F G, WANG J et al. Evaluation of acaricidal activity of main components in *Citrus* extract[J]. *Chin J Appl Entomol*, 2016, 53(1): 95-102.
- [38] BADAWY M E I, ABDELGALEIL S A M, MAHMOUD N F, et al. Preparation and characterizations of essential oil and monoterpene nanoemulsions and acaricidal activity against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch)[J]. *Int J Acarol*, 2018, 44(7): 330-340.
- [39] BADAWY M E I, EL-ARAMI S A A, ABDELGALEIL S A M. Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*[J]. *Exp Appl Acarol*, 2010, 52(3): 261-274.
- [40] ELLIS M D, BAXENDALE F P. Toxicity of seven monoterpenoids to tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) and their honey bee (Hymenoptera: Apidae) hosts when applied as fumigants[J]. *J Econ Entomol*, 1997, 90(5): 1087-1091.
- [41] ROH H S, LEE B H, PARK C G. Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae)[J]. *J Asia Pac Entomol*, 2013, 16(3): 245-249.
- [42] ABDELGALEIL S A M, MOHAMED M I E, BADAWY M E I, et al. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity[J]. *J Chem Ecol*, 2009, 35(5): 518-525.
- [43] KIM E H, KIM H K, AHN Y J. Acaricidal activity of clove bud oil compounds against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari : Pyroglyphidae)[J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(4): 885-889.
- [44] REGNAULT-ROGER C, VINCENT C, THOR ARNASON J. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world[J]. *Annu Rev Entomol*, 2012, 57: 405-424.
- [45] ISMAN M B, MIRESMAILLI S, MACHIAL C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products[J]. *Phytochem Rev*, 2011, 10(2): 197-204.
- [46] RUIZ-VASQUEZ L, RUIZ MESIA L, CABALLERO CEFERINO H D, et al. Antifungal and herbicidal potential of *Piper* essential oils from the Peruvian Amazonia[J]. *Plants-Basel*, 2022, 11(14): 1793.
- [47] 张红梅, 陈玉湘, 徐士超, 等. 生物源除草活性物质开发及应用研究进展[J]. 农药学报, 2021, 23(6): 1031-1045.
ZHANG H M, CHEN Y X, XU S C, et al. Research progress on development and application of bio-sourced herbicidal active substances[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2021, 23(6): 1031-1045.
- [48] BOZHUYUK A U. Herbicidal activity and chemical composition of two essential oils on seed germinations and seedling growths of three weed species[J]. *J Essent Oil Bear Pl*, 2020, 23(4): 821-831.
- [49] AMRI I, GARGOURI S, HAMROUNI L, et al. Chemical composition, phytotoxic and antifungal activities of *Pinus pinea* essential oil[J]. *J Pest Sci*, 2012, 85(2): 199-207.
- [50] FAGODIA S K, SINGH H P, BATISH D R, et al. Phytotoxicity and cytotoxicity of *Citrus aurantifolia* essential oil and its major constituents: limonene and citral[J]. *Ind Crop Prod*, 2017, 108: 708-715.
- [51] BLAZQUEZA M, CARBO E. Control of *Portulaca oleracea* by boldo and lemon essential oils in different soils[J]. *Ind Crop Prod*, 2015, 76: 515-521.
- [52] SHAO H, ZHANG Y M, NAN P, et al. Chemical composition and phytotoxic activity of the volatile oil of invasive *Xanthium italicum* Moretti from Xinjiang, China[J]. *J Arid Land*, 2013, 5(3): 324-330.
- [53] SCRIVANTI L R, ZUNINO M P, ZYGADLO J A. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2003, 31(6): 563-572.
- [54] SINGH H P, BATISH D R, KAUR S, et al. α -pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots[J]. *Ann Bot-London*, 2006, 98(6): 1261-1269.
- [55] ULUKANLI Z, KARABÖRKLÜ S, BOZOK F, et al. Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean *Pinus brutia* and *Pinus pinea* resin essential oils[J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(12): 901-910.
- [56] CHAIMOVITSH D, SHACHTER A, ABU-ABIED M, et al. Herbicidal activity of monoterpenes is associated with disruption of microtubule functionality and membrane integrity[J]. *Weed Sci*, 2017, 65(1): 19-30.
- [57] ABRAHIM D, BRAGUINI W L, KELMER-BRACHT A M, et al. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize[J]. *J Chem Ecol*, 2000, 26(3): 611-624.
- [58] MAREI G I K, RASOUL M A A, ABDELGALEIL S A M. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2012, 103(1): 56-61.
- [59] SEDEEK M S, AL-MAHALLAWI A M, HUSSEIN R A A, et al. Hexosomal dispersion: a nano-based approach to boost the antifungal potential of Citrus essential oils against plant fungal pathogens[J]. *Molecules*, 2021, 26(20): 6284.
- [60] KRZYŚKO-LUPICKA T, WALKOWIAK W, BIAŁOŃ M. Comparison of the fungistatic activity of selected essential oils relative to *Fusarium graminearum* isolates[J]. *Molecules*, 2019, 24(2): 311.
- [61] LUCHESI L A, PAULUS D, BUSSO C, et al. Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of essential oils from *Baccharis dracunculifolia* and *Pogostemon cablin* against *Fusarium graminearum*[J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(3): 849-852.
- [62] JIAN Y Q, CHEN X, MA H Q, et al. Limonene formulation exhibited potential application in the control of mycelial growth and deoxynivalenol production in *Fusarium graminearum*[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1161244.
- [63] CHANG H T, CHENG Y H, WU C L, et al. Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi[J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(14): 6266-6270.

- [64] BOUAJAJ S, ROMANE A, BENYAMNA A, et al. Essential oil composition, phytotoxic and antifungal activities of *Ruta chalepensis* L. leaves from High Atlas Mountains (Morocco)[J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(21): 1910-1914.
- [65] DAMBOLENA J S, LOPEZ A G, CANEPA M C, et al. Inhibitory effect of cyclic terpenes (limonene, menthol, menthone and thymol) on *Fusarium verticillioides* MRC 826 growth and fumonisin B1 biosynthesis[J]. *Toxicon*, 2008, 51(1): 37-44.
- [66] KAPETANAKOU A E, NESTORA S, EVAGELIOU V, et al. Sodium alginate-cinnamon essential oil coated apples and pears: Variability of *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production[J]. *Food Res Int*, 2019, 119: 876-885.
- [67] XIANG F Z, ZHAO Q Q, ZHAO K, et al. The efficacy of composite essential oils against aflatoxigenic fungus *Aspergillus flavus* in maize[J]. *Toxins*, 2020, 12(9): 562.
- [68] KALAGATUR N K, MUDILI V, KAMASANI J R, et al. Discrete and combined effects of Ylang-Ylang (*Cananga odorata*) essential oil and gamma irradiation on growth and mycotoxins production by *Fusarium graminearum* in maize[J]. *Food Control*, 2018, 94: 276-283.
- [69] KALAGATUR N K, MUDILI V, SIDDAIAH C, et al. Antagonistic activity of *Ocimum sanctum* L. essential oil on growth and zearalenone production by *Fusarium graminearum* in maize grains[J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 892.
- [70] HOU T Y, SANA S S, LI H Z, et al. Essential oils and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: a review[J]. *Food Biosci*, 2022, 47: 101716.
- [71] MA B X, BAN X Q, HUANG B, et al. Interference and mechanism of dill seed essential oil and contribution of carvone and limonene in preventing *Sclerotinia* rot of rapeseed[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0131733.
- [72] ZHANG Z L, MO Z L, ZHANG X L, et al. The antifungal activity and action mechanism of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) essential oil against *Fusarium avenaceum*[J]. *J Essent Oil Bear Pl*, 2022, 25(3): 536-547.
- [73] KIM D Y, KADAM A, SHINDE S, et al. Recent developments in nanotechnology transforming the agricultural sector: a transition replete with opportunities[J]. *J Sci Food Agric*, 2018, 98(3): 849-864.
- [74] WANG D J, SALEH N B, BYRO A, et al. Nano-enabled pesticides for sustainable agriculture and global food security[J]. *Nat Nanotechnol*, 2022, 17(4): 347-360.
- [75] PARISI C, VIGANI M, RODRÍGUEZ-CEREZO E. Agricultural nanotechnologies: what are the current possibilities?[J]. *Nano Today*, 2015, 10(2): 124-127.
- [76] USMAN M, FAROOQ M, WAKEEL A, et al. Nanotechnology in agriculture: current status, challenges and future opportunities[J]. *Sci Total Environ*, 2020, 721: 137778.
- [77] 陈娟妮, 蔡璘, 李石力, 等. 纳米技术在植物病害防控中应用的研究进展 [J]. *植物保护学报*, 2019, 46(1): 142-150.
CHEN J N, CAI L, LI S L, et al. Progress in application of nanotechnology on plant diseases management in agriculture[J]. *J Plant Prot*, 2019, 46(1): 142-150.
- [78] SINGH B K, TIWARI S, DUBEY N K. Essential oils and their nanoformulations as green preservatives to boost food safety against mycotoxin contamination of food commodities: a review[J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101(12): 4879-4890.
- [79] 筱禾. 植物源农药纳米制剂的最新研究进展与挑战 [J]. *世界农药*, 2018, 40(5): 21-31.
XIAO H. The latest research progress and challenges of botanical pesticide nano-preparations[J]. *World Pestic*, 2018, 40(5): 21-31.
- [80] MUSTAFA I F, HUSSEIN M Z. Synthesis and technology of nanoemulsion-based pesticide formulation[J]. *Nanomaterials-Basel*, 2020, 10(8): 1608.
- [81] PINILLA C M B, LOPES N A, BRANDELLI A. Lipid-based nanostructures for the delivery of natural antimicrobials[J]. *Molecules*, 2021, 26(12): 3587.
- [82] YANG T S, LIU T T, LIU H I. Nanostructured lipid carriers complexed with mesoporous silica nanoparticles in encapsulating lipid-insoluble functional substances or volatile compounds[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2020, 120: 108947.
- [83] LIMA L A, FERREIRA-SÁ P S, GARCIA M D N, et al. Nano-emulsions of the essential oil of *Baccharis reticularia* and its constituents as eco-friendly repellents against *Tribolium castaneum*[J]. *Ind Crops Prod*, 2021, 162: 113282.
- [84] THEOCHARI I, GIATROPOULOS A, PAPANIMITRIOU V, et al. Physicochemical characteristics of four limonene-based nanoemulsions and their larvicidal properties against two mosquito species, *Aedes albopictus* and *Culex pipiens molestus*[J]. *Insects*, 2020, 11(11): 740.
- [85] ALIREZA S D, DJAEFAR M F M, MOSTAFA S, et al. Nanoliposomes containing limonene and limonene-rich essential oils as novel larvicides against malaria and filariasis mosquito vectors[J]. *BMC Complementary Med Ther*, 2022, 22(1): 140.
- [86] ABDEL-KAWY M A, MICHEL C G, KIROLLOS F N, et al. Chemical composition and potentiation of insecticidal and fungicidal activities of *Citrus trifoliata* L. fruits essential oil against *Spodoptera littoralis*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* via nanocubosomes[J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(14): 2438-2443.
- [87] FENG J G, WANG R, CHEN Z Y, et al. Formulation optimization of D-limonene-loaded nanoemulsions as a natural and efficient biopesticide[J]. *Colloid Surface A*, 2020, 596: 124746.
- [88] UMAGILYAGE A L, BECERRA-MORA N, KOHLI P, et al. Antimicrobial efficacy of liposomes containing D-limonene and its effect on the storage life of blueberries[J]. *Postharvest Biol Tec*, 2017, 128: 130-137.
- [89] WEISANY W, SAMADI S, TAHIR N A-R, et al. Nano-encapsulated with mesoporous silica enhanced the antifungal activity of essential oil against *Botrytis cinerea* (Helotiales: Sclerotiniaceae) and *Colletotrichum nymphaeae* (Glomerellales: Glomerellaceae)[J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 2022, 122: 101902.
- [90] GUERRA I C D, DE OLIVEIRA P D L, SANTOS M M F, et al. The effects of composite coatings containing chitosan and *Mentha (piperita* L. or χ *villosa* Huds) essential oil on postharvest mold occurrence and quality of table grape cv. Isabella[J]. *Innov Food Sci Emerg*, 2016, 34: 112-121.
- [91] 张航航, 陈慧萍, 曹冲, 等. 农药纳米乳剂研究进展 [J]. *农药学报*, 2022, 24(6): 1340-1357.
ZHANG H H, CHEN H P, CAO C, et al. Research progress of nanoemulsion of pesticides[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2022, 24(6): 1340-1357.