

应用技术

## 黄花蒿粗提物与吡螨胺混用对朱砂叶螨的联合毒力

郭文明, 丁伟, 张永强

(西南大学 植物保护学院, 重庆 400716)

**摘要:**采用玻片浸渍法在室内条件下测定了黄花蒿丙酮粗提物按不同配比与吡螨胺混用后对朱砂叶螨的室内毒力, 以明确黄花蒿丙酮粗提物与吡螨胺混用后的增效作用。结果表明: 黄花蒿丙酮粗提物与吡螨胺对朱砂叶螨单用对朱砂叶螨的 $LC_{50}$ 值(48 h)分别为423.23、5.46 mg/L。两者按质量比为180.9:1混用后增效作用达到最强, 共毒系数为357.4, 对朱砂叶螨的 $LC_{50}$ 值为84.26 mg/L。

**关键词:** 黄花蒿粗提物; 吡螨胺; 朱砂叶螨; 增效作用

**中图分类号:** S482.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1006-0413(2008)11-0839-03

## Synergism of Extract of *Artemisia annua* L. Mixture with Tebufenpyrad to *Tetranychus cinnabarinus*

GUO Wen-ming, DING Wei, ZHANG Yong-qiang

(College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China)

**Abstract:** Laboratory toxicity of extract of *Artemisia annua* L. and tebufenpyrad mixtures to *Tetranychus cinnabarinus* were determined by slide dip method. The results showed that when the weight ratio of extract of *Artemisia annua* L. and tebufenpyrad was 180.9:1, the synergism was the most significant with the co-toxicity coefficient of 357.4 after treatment 48 h and the  $LC_{50}$  was 84.26 mg/L. However, the  $LC_{50}$  of acetone extract of *Artemisia annua* L. and tebufenpyrad against *T. cinnabarinus* were 423.23 and 5.46 mg/L, respectively. There were significant acaricidal bioactivities synergies effect after mixture of extract of *Artemisia annua* L. and tebufenpyrad.

**Key words:** extract of *Artemisia annua* L.; tebufenpyrad; *Tetranychus cinnabarinus*; synergism effect

黄花蒿(*Artemisia annua* L.)是菊科一年生草本植物,在我国各地均有分布,常生于山坡、林地、荒地。黄花蒿在医学方面有一定的利用价值,从中提取的青蒿素具有较强的抗疟活性,且毒性小,为国际公认的抗疟药物<sup>[1-2]</sup>。此外,黄花蒿中所含的活性物质还具有抑菌、杀虫等农用活性。研究表明:黄花蒿的粗提物对黄瓜枯萎病菌、番茄早疫病菌、辣椒丝核病菌、番茄灰霉病菌、棉花枯萎病菌、稻瘟病菌、烟草黑胫病菌、瓜果腐霉病菌的菌丝生长有较强的抑制作用<sup>[3-6]</sup>。在杀虫活性方面,黄花蒿精油对米象、玉米象、绿豆象和蚕豆象等4种仓库害虫具有很强的熏杀活性,其甲醇和乙醇提取物对小菜蛾、菜青虫、大菜粉蝶、银纹夜蛾和斜纹夜蛾幼虫也具有一定的杀虫活性<sup>[7]</sup>。周宇杰等利用黄花蒿的石油醚、苯、乙醚、丙酮和水的平行提取物和顺序提取物对朱砂叶螨进行了系统的触杀活性研究。结果表明黄花蒿石油醚、苯、乙醚、丙酮和水提取物有一定的杀螨活性,其中以黄花蒿七月叶的丙酮顺序粗提物活性最强,在质量浓度为10 g/L下处理朱砂叶螨,48、72 h的校正死亡率分别为90.64%和100%<sup>[8,9]</sup>。

吡螨胺(tebufenpyrad),商品名必螨立克,是一种快速、高效的具有吡唑羧酰胺结构的新型杀虫、杀螨剂。1987年由日本三菱化成公司发现其结构<sup>[9]</sup>。吡螨胺主要用

于果树、蔓生作物、棉花、蔬菜和观赏植物等,对各种螨类及半翅目、同翅目害虫高效。吡螨胺对各种螨类和螨的发育全期均有速效和高效作用。它与普通常用杀螨剂不同,不是作为特异的肌肉或神经毒剂,也不是作用于昆虫体内的生物胺或乙酰胆碱受体,它是一种昆虫线粒体呼吸抑制剂,其作用机制是在位点I处抑制电子传递。它与常用的杀螨剂三氯杀螨砒、苯丁锡、噻螨酮等常用杀螨剂无交互抗性。另外吡螨胺具有优异的越层渗透活性,对目标作物有极佳的选择性,它能控制植物体上虽经药剂处理但未接触药剂的其他部位<sup>[10]</sup>。本研究应用具有杀螨活性成分的黄花蒿丙酮粗提物与吡螨胺进行混配,研究了二者混用后的增效作用及其最佳配比,为黄花蒿粗提物与化学农药吡螨胺混用防治害螨提供了理论依据,更进一步拓宽黄花蒿在农业上的应用途径。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试药剂

黄花蒿(*Artemisia annua* L.)丙酮粗提物:黄花蒿于2007年7月采自西南大学后山,收集植株叶片,洗净,置于60℃烘箱烘干,小型粉碎机粉碎,过250 μm筛;加入丙酮浸泡48 h,抽滤后减压浓缩获得粗提物。置于冰箱中冷

收稿日期:2008-07-31

作者简介:郭文明(1981—),男,山西人,硕士研究生,从事植物源农药与剂型加工方面的研究。

通讯作者:丁伟(1966—),教授,博导,主要从事生物农药的研究与应用。Tel: 023-68250218, E-mail: dwing818@yahoo.com.cn。

藏备用。96%吡螨胺原药,上海中邦化工有限公司。

## 1.2 供试生物

朱砂叶螨(*Tetranychus cinnabarinus*)敏感品系。最初采自重庆市北碚区田间的豇豆苗上,在人工气候室内( $26 \pm 1$ )℃、60%~80%相对湿度、光照条件L:D=14 h:10 h下用盆栽豇豆苗饲养了多年所获得的品系。试验前栽种一批整齐的豇豆苗,每株苗子上挑朱砂叶螨雌成螨15只,任其产卵12 h,移去成螨。待螨卵孵化之后,同样条件下培养8~9 d作为供试生物。

## 1.3 试验设计

### 1.3.1 混剂增效配比的筛选

采用Horsfall试验设计方法<sup>[11]</sup>。首先测定两单剂的LC<sub>50</sub>值,然后以单剂A、B的LC<sub>50</sub>值为基准,将2种药液按体积比10:0、9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9、0:10等不同的比例混合(各处理中单剂LC<sub>50</sub>值量所占比例见表1)。48 h后测定目标生物的死亡率。计算毒性比率,若毒性比率>1,为增效作用;毒性比率<1,为拮抗作用;毒性比率为1左右为相加作用<sup>[12-13]</sup>。

$$\text{毒性比率} = \frac{\text{观察死亡率}}{\text{期望死亡率}}$$

A、B两种药剂混配后的期望死亡率计算公式为:

期望死亡率 = A的LC<sub>50</sub>剂量实际死亡率 × 配比中的百分率 + B的LC<sub>50</sub>剂量实际死亡率 × 配比中的百分率。

表1 各处理中单剂LC<sub>50</sub>量所占比例 (%)

| 组别       | 1   | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11  |
|----------|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| 黄花蒿丙酮粗提物 | 100 | 90 | 80 | 70 | 60 | 50 | 40 | 30 | 20 | 10 | 0   |
| 吡螨胺      | 0   | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |

### 1.3.2 混剂增效最佳配比的确定

选取毒性比率最高的4组按孙云沛方法进行联合毒性测定<sup>[14]</sup>,计算各组混剂的共毒系数,根据共毒系数来确定最佳配比。

## 1.4 试验方法

毒力测定:采用联合国粮农组织(FAO)推荐的玻片浸渍法<sup>[15]</sup>。将双面胶带剪成2 cm长,粘在载玻片的一端,然后用小镊子夹起粘胶上的纸片,选取健康的、3~5 d龄的雌成螨,用0号毛笔挑起雌成螨并将其背部贴在粘胶上,每片约30头。置于20~30℃下,4 h后,双目解剖镜检查每个雌成螨,剔除死亡与不活泼的个体。然后将粘有雌成螨的玻片一端浸入待测药液中,并轻轻摇动玻片,浸5 s后取出,用吸水纸吸取螨体周围多余的药液,然后置于( $26 \pm 1$ )℃、60%~80%相对湿度、光照条件L:D=14 h:10 h的条件下培养。48 h后,在双目解剖镜下检查死亡数及存活数。死亡标准以0号毛笔轻轻触动螨足或口器,无任何反应即为死亡。

药剂配制:单剂LC<sub>50</sub>值测定,准确称取待测单剂若干,用适量的丙酮溶解,再加少许Tween-20,然后用清水按等比法稀释成5个梯度质量浓度待用;毒性比率测定时,先配制两单剂的LC<sub>50</sub>值液,然后按一定体积比例混合待用;联合毒力测定时,准确称取所需的混剂,用适量的丙酮溶解,再加少许Tween-20,然后用清水按等比法稀释成5个梯度质量浓度。以上每个处理3次重复,处理时均以清水为对照。

## 1.5 数据处理

死亡率用Abbott公式校正,利用SPSS12.0软件处理数据,求出单剂与复配剂的毒力回归方程、LC<sub>50</sub>值、相关系数和95%的置信限。

## 2 结果与分析

### 2.1 两单剂LC<sub>50</sub>值测定

采用玻片浸渍法测定黄花蒿丙酮粗提物与吡螨胺对朱砂叶螨的室内毒力,结果(见表2)表明:在药后48 h,黄花蒿丙酮粗提物对朱砂叶螨雌成螨的LC<sub>50</sub>值为423.23 mg/L,吡螨胺的LC<sub>50</sub>值为5.46 mg/L。

表2 黄花蒿丙酮粗提物与吡螨胺的毒力回归方程(48 h)

| 药剂       | 毒力回归方程<br>(y=) | LC <sub>50</sub> /<br>(mg·L <sup>-1</sup> ) | 95%<br>置信限  | 相关<br>系数 |
|----------|----------------|---------------------------------------------|-------------|----------|
| 黄花蒿丙酮粗提物 | 1.2046x+1.8360 | 423.23                                      | 334.4~535.5 | 0.9897   |
| 吡螨胺      | 2.6255x+3.0641 | 5.46                                        | 4.86~6.13   | 0.9864   |

### 2.2 两单剂不同配比混用后的毒性比率

以两单剂LC<sub>50</sub>的近似值(黄花蒿粗提物420 mg/L,吡螨胺5.4 mg/L)为100%,取不同比例进行复配,测定其共毒比率,结果见表3。

表3 两单剂不同配比混用后的毒性比率 (48 h)

| 组别 | LC <sub>50</sub> 液体积比<br>(黄:吡) | 质量比<br>(黄:吡) | 供试数 | 存活数 | 实际<br>死亡率/% | 理论<br>死亡率/% | 共毒<br>比率 |
|----|--------------------------------|--------------|-----|-----|-------------|-------------|----------|
| 1  | 10:0                           |              | 129 | 75  | 41.9        | 41.9        | 1.00     |
| 2  | 9:1                            | 697.6:1      | 124 | 64  | 48.4        | 42.3        | 1.14     |
| 3  | 8:2                            | 310.1:1      | 131 | 66  | 49.6        | 42.7        | 1.16     |
| 4  | 7:3                            | 180.9:1      | 130 | 50  | 61.5        | 43.1        | 1.43     |
| 5  | 6:4                            | 116.3:1      | 123 | 61  | 50.4        | 43.5        | 1.16     |
| 6  | 5:5                            | 77.5:1       | 131 | 64  | 54.5        | 43.9        | 1.24     |
| 7  | 4:6                            | 51.7:1       | 126 | 78  | 38.1        | 44.3        | 0.86     |
| 8  | 3:7                            | 33.2:1       | 131 | 66  | 49.6        | 44.7        | 1.11     |
| 9  | 2:8                            | 19.4:1       | 130 | 66  | 49.2        | 45.1        | 1.09     |
| 10 | 1:9                            | 8.6:1        | 129 | 69  | 46.5        | 45.5        | 1.02     |
| 11 | 0:10                           |              | 133 | 72  | 45.9        | 45.9        | 1.00     |

从表3中可以看出:除第7组复配剂的共毒比率小于1外,其余各组(第1、11组为单剂)的共毒比率都在1以上,表现增效作用。两单剂复配后,共毒比率总体呈现先增加后降低的特点,增效作用较强4组分别是第3、4、5、6组,其共毒比率为1.14、1.16、1.43、1.16。

### 2.3 混剂共毒系数的测定

对共毒比率较高的第3、4、5、6组,进行了室内毒力

测定,计算出各组 $LC_{50}$ 值毒力回归方程,并根据孙云沛法计算出了各组的共毒系数,结果见表4。

表4 两单剂不同配比混用后的共毒系数 (48 h)

| 药剂 | 毒力回归方程<br>( $y=$ ) | $LC_{50}$<br>( $mg \cdot L^{-1}$ ) | 95%<br>置信限  | 相关<br>系数 | 共毒系数<br>CTC |
|----|--------------------|------------------------------------|-------------|----------|-------------|
| 3  | $-1.2645+2.584x$   | 265.70                             | 239.4~294.8 | 0.9779   | 129.6       |
| 4  | $2.4554+1.3279x$   | 82.46                              | 66.5~102.3  | 0.9795   | 357.4       |
| 5  | $1.4919+1.5067x$   | 212.93                             | 159.5~284.3 | 0.9883   | 138.4       |
| 6  | $2.2021+1.1688x$   | 161.20                             | 125.9~206.2 | 0.9778   | 182.9       |

从表4可以看出:4组的共毒系数均120以上,说明黄花蒿丙酮提取物与吡螨胺在这4种配比下均表现为增效作用,其中第4组共毒系数最大,达到357.4,为二者的最佳配比,结合表3可以看出此配比中黄花蒿丙酮粗提物与吡螨胺的质量比为180.9:1。

### 3 讨论

试验采用玻片浸渍法测定了植物源杀螨剂黄花蒿丙酮提取物与化学杀螨剂吡螨胺混配的增效作用,确定了最佳配比。结果表明:当黄花蒿丙酮提取物与吡螨胺质量比为180.9:1混配时,达到最佳增效效果,其共毒系数为357.4,此配比为二者的最佳配比。

植物源农药与化学农药在单独使用上均存在一定的局限性,植物源药剂在大多数情况下对人畜毒性低,而且在环境中容易降解,喷洒后在农林收获物中的残留量小,基本上无残毒问题。但植物源农药杀虫有效成分只占植物体的极少部分,在应用时制剂稀释倍数常在几百倍,而且其速效性差、喷药次数多、残效期短、不易为农民接受。这些缺点使得单纯应用植物源药剂进行害虫防治在生产实践中难以得到推广。化学农药虽然具有作用速度快,持效期长等优点,但化学农药长期、频繁使用带来了许多副作用,如“3R”问题日渐突出等。因此在生产应用中将植物源药剂与化学药剂进行混用,使两者的优势互补,是有效控制害虫、害螨,延缓抗性发展的有效途径之一。

本文采用 $LC_{50}$ 值来作为增效作用研究的依据,从这个值

本身来看,黄花蒿丙酮提取物用量比较大,这与该物质是一个粗提取物有关。此粗提取物中杀螨活性的化合物的组成、含量和结构等尚在研究之中,但本项研究可初步明确,黄花蒿的丙酮提取物和吡螨胺混用具有明显的增效作用,这对进一步拓宽黄花蒿在农业领域的应用以及研究黄花蒿杀螨活性化合物的性质和组成均有一定的参考作用。

### 参考文献:

- [1] 屠呦呦. 中药青蒿化学成分的研究[J]. 药科学报, 1981, 16(5): 366.
- [2] KLAYMAN D L. Qinghaosu(Artemisinin): An Antimalarial Drug from China[J]. Science, 1985, 228: 1049.
- [3] 何静, 沈慧敏, 张新虎. 七种植物粗提物对常见植物病菌的抑菌作用研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2004, 39(4): 447-450.
- [4] LIU Chang-hong, ZOU Wong-xin, LU Hong, et al. Antifungal Activity of Artemisia Annua Endophyte Cultures against Phytopathogenic Fungi[J]. Journal of Biotechnology, 2001, 88: 277-282.
- [5] LU Hong, ZOU Wong-xin, MENG Ji-cheng, et al. New Bioactive Metabolites Produced by *Colletotrichum* sp., an Endophytic Fungus in Artemisia Annua[J]. Plant Science, 2000, 151(1): 67-73.
- [6] SONG Shu-qin, ZHOU Li-gang, LI Duan, et al. Antifungal Activity of Five Plants from Xinjiang[J]. Natural Product Research and Development, 2004, 2(14): 157-159.
- [7] 李云寿, 唐绍宗, 邹华荣, 等. 黄花蒿提取物的杀虫活性[J]. 农药, 2000, 39(10): 25-26.
- [8] 周宇杰, 丁伟, 王春升. 青蒿粗提物对朱砂叶螨生物活性的初步研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2006, 28(2): 305-308.
- [9] 陶贤鉴, 庞怀林, 杨剑波, 等. 吡螨胺的合成与应用[J]. 农药研究与应用, 2007, 11(2): 19-26.
- [10] 柏亚罗. 具有不同作用机理的杀螨剂[J]. 世界农药, 2005, 4(3): 27-30.
- [11] 张宗炳. 杀虫药剂的毒力测定(原理·方法·应用)[M]. 北京: 科学出版社, 1988: 396-398.
- [12] 陈福良, 郑斐能, 王仪. 农药混配室内毒力测定的一种实验技术[J]. 农药科学与管理, 1994(4): 31-34.
- [13] 宋仲容, 何家洪, 高志强. 定虫隆与高效氯菊酯对小菜蛾毒力最佳配比的筛选[J]. 农药, 2007, 46(10): 716-718.
- [14] 赵善欢. 植物化学保护[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 42-43.
- [15] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991: 68-69.
- [16] 张永强, 丁伟, 赵志模, 等. 黄花蒿提取物对朱砂叶螨生物活性的研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(3): 720-726.

责任编辑: 赵平

### 欧盟对熏剂产品制定最大残留限制标准

最近欧盟委员会对用于采收后的熏剂产品进行了列表登记,这些熏剂将不再受欧盟新的最大残留限制标准的约束。该表属于新的欧盟农药最大残留限制标准管理规则396/2005的附录VII的一部分,旨在帮助那些在收割采收后使用了熏剂产品的农产品免遭贸易损害。

目前新的附录VII包括了使用于水果、蔬菜、豆类、含油种子 and 油果、谷类、茶、咖啡、草药、可可和香料等的磷化三氢、磷化铝和磷化镁以及在水果和谷类产品上使用的硫酰氟。欧盟委员会已经同意各成员国对附录中收录的这些活性组分在采收后产品中的最大残留量可以稍大于欧盟先前制定的最大残留限定标准。

新的附录是欧盟常务委员会在2008年2月举行的食品链及动物安全会议上提出的,并已于4月8日正式开始实施。这标志着对规则396/2005的进一步完善和改进。(ZP)