

黄花蒿提取物对柑橘全爪螨的生物活性

张永强, 丁 伟, 田 丽, 赵志模

(西南大学植物保护学院, 重庆 400716)

摘要:【目的】通过系统测定黄花蒿对柑橘全爪螨的杀螨生物活性, 为综合开发利用黄花蒿提供科学依据。【方法】采集 6 月份和 7 月份的黄花蒿植株, 分成根、茎、叶 3 个部分, 采用石油醚 (30~60℃)、石油醚 (60~90℃)、乙醇、丙酮和水溶剂的平行和顺序提取方法, 获得 54 种提取物, 并测定了它们对柑橘全爪螨的室内杀螨活性。【结果】结果表明, 7 月份的黄花蒿植株的生物活性大多优于 6 月份, 并以 7 月份叶的丙酮平行提取物活性最高。对柑橘全爪螨处理 48 h 后, 7 月份叶的丙酮平行提取物对柑橘全爪螨的 LC_{50} (0.4222 mg·ml⁻¹) 仅为 6 月份 (0.9489 mg·ml⁻¹) 的 44%。对黄花蒿 7 月叶的丙酮提取物进行柱层析得 20 种不同的组分, 其中组分 17 的杀螨活性最高, 与其它组分的杀螨活性存在显著差异 ($P < 0.05$)。【结论】7 月叶丙酮平行提取物对柑橘全爪螨的生物活性最强。并对其进行柱层析分离, 得 20 种组分, 组分 17 的杀螨活性最高, 具体的杀螨活性化合物还有待进一步深入研究。

关键词: 黄花蒿; 柑橘全爪螨; 杀螨生物活性

Acaricidal Bioactivity of *Artemisia annua* Extracts Against *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae)

ZHANG Yong-qiang, DING Wei, TIAN Li, ZHAO Zhi-mo

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

Abstract: 【Objective】 To determine the acaricidal bioactivities of *Artemisia annua* against *Panonychus citri*, so to provide a scientific basis for the comprehensive development and utilization of *A. annua*. 【Method】 Collect The whole *A. annua* plants were collected in June and July respectively, and the whole plants were cut into root, stems and leaves, petroleum ether (30-60℃), petroleum ether (60-90℃), ethanol, acetone and water were used and extracted by the parallel and sequenced solvents extraction methods, finally 54 kinds of extracts were obtained and their indoor acaricidal bioactivity against *P. citri* were determined. 【Results】 The results showed that the biological activity of the *A. annua* plant in July was better than in June and the acetone parallel extract of leaf in July was stronger than other extracts. The LC_{50} of the acetone parallel extract of leaf in July was 0.4222 mg·ml⁻¹, which was only 44% of 0.9489 mg·ml⁻¹ in June. With the bio-guided isolation method, the acaricidal activity of different components isolated from *A. annua* July leaf parallel acetone extracts by column chromatography were determined in the laboratory. The 20 kinds of components were obtained, the acaricidal activity of component 17 was the strongest. There was a significant difference between component 17 and other components ($P < 0.05$). 【Conclusion】 The acetone parallel extract of leaf in July showed a strongest biological activity against *P. citri*. And separated by column chromatography, 20 kinds of components were obtained, component 17 exhibited a highest acaricidal bioactivity and certain acaricidal bioactivity compound would be identified in further studies.

Key words: *Artemisia annua*; *Panonychus citri*; acaricidal bioactivity

0 引言

【研究意义】柑橘全爪螨 [*Panonychus citri* (Mc-

Gregor)] 又称柑橘红蜘蛛, 是柑橘上普遍发生的最严重的害螨之一, 发生代数多, 全国各柑橘产区均有分布, 为中国柑橘生产的最重要的害虫之一^[1]。使用化

收稿日期: 2008-09-23; 接受日期: 2008-11-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30671392)、重庆市科技攻关项目 (CSTC, 2008AC1094)

作者简介: 张永强 (1980—), 男, 河南虞城人, 副教授, 博士, 研究方向为植物源杀螨剂。通信作者丁 伟 (1966—), 男, 河南邓州人, 教授, 博士, 研究方向为天然产物农药。Tel: 023-68250218; E-mail: dwwing818@yahoo.com.cn

学农药制剂防治柑橘全爪螨的研究很多^[2-5],但效果均不理想。【前人研究进展】黄花蒿 *Artemisia annua*, 为菊科蒿属一年生草本植物,因富含青蒿素而闻名于世,对黄花蒿的研究报道主要集中在医药方面^[6-9]。笔者前期的研究表明,黄花蒿对朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus*) 具有较强的生物活性^[10-11]。有关植物提取物防治柑橘全爪螨的研究已有相关报道,如韩建勇等^[12]研究了白花丹 (*Plumbago zeylanica* L.) 根提取物对柑橘全爪螨的杀螨活性,发现其具有优良的杀螨、杀卵和产卵抑制活性。周顺玉等^[13]报道了 18 种植物的乙醇提取物对柑橘全爪螨的生物活性,其中测试结果表明,七叶一枝花 (*Paris polyphylla*) 的毒杀效果最强。【本研究切入点】以上研究结果表明从植物中寻找杀螨活性物质是可行的,但黄花蒿对柑橘全爪螨的生物活性研究未见报道。【拟解决的关键问题】为了明确黄花蒿对柑橘全爪螨的生物活性,选用西南大学研究院柑橘园区多年未施药区的柑橘全爪螨为供试对象,试图寻找对柑橘全爪螨活性较高的提取物,并探讨了活性较强的提取物不同柱层析组分的杀螨活性,为提取植物源的生物活性物质,开发新的柑橘害螨控制药剂提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试螨类 柑橘全爪螨 (*Panonychus citri*): 采自西南大学研究院多年未施药的柑橘园区,选择整齐一致的雌成螨作为供试对象。

1.1.2 供试植物材料的来源及提取方法 6月25日和7月25日,在重庆市北碚区西南大学教学实验农场附近,采集黄花蒿全株。将采得的黄花蒿分成根、茎、叶3部分,置于60℃烘箱烘干,小型粉碎机粉碎,过80目筛。石油醚I、石油醚II、乙醇、丙酮和水的平行和顺序膏状提取物的提取方法参见参考文献[11,14]。

1.1.3 黄花蒿杀螨活性成分的分离 层析用硅胶(100~200目)(青岛海洋化工),干法装柱,称取活性最高的提取物4g,加4g硅胶拌匀,加于硅胶柱顶端,用石油醚:丙酮(13:1,11:1,9:1,7:1,5:1,3:1,1:1,1:2,1:3)洗脱,控制洗脱剂流速在300 ml·L⁻¹,每40 min收集1份,共分离得48份物质。然后用薄层层析[石油醚:丙酮(3:1)混合液为展开剂]检查,根据Rf值的大小合并相同部分,共得到20份不同的组分。

1.2 试验方法

取适量的顺序和平行提取物加入一定量丙酮和吐温20,用水稀释配制成5 mg·ml⁻¹,作为供试药液。作毒力回归分析时,在初试的基础上选用5~7个浓度。参照FAO推荐的测定螨类抗药性的标准方法—玻片浸渍法并加以改进^[15]。结果进行方差分析,并用Duncan新复极差法比较各处理间的效果差异,毒力回归式按机率值分析法计算^[16],由SAS软件^[17]统计完成。

2 结果与分析

2.1 黄花蒿6月份和7月份提取物对柑橘全爪螨的触杀活性

用5 mg·ml⁻¹的黄花蒿6月份和7月份的不同溶剂提取物,在实验室条件下测定各自对柑橘全爪螨的触杀活性,结果如图1和图2所示。

从图1看出,6月份叶除石油醚II顺序提取物和水顺序提取物外,其它的提取物活性均比根茎提取物的活性高。其中叶丙酮平行提取物对柑橘全爪螨在5 mg·ml⁻¹处理48 h后,校正死亡率达88.84%。其它的叶提取物对柑橘全爪螨的校正死亡率在30%~77%,而水的效果最差。根的活性跟茎相差不多,随提取使用溶剂的不同活性亦有较大变化。

从图2看出,7月份叶的不同溶剂提取物对柑橘全爪螨的生物活性明显高于根和茎的活性,其中叶的丙酮、石油醚I、乙醇平行提取物和石油醚II、丙酮顺序提取物对柑橘全爪螨的校正死亡率均在90%以上。丙酮平行提取物活性最高,对柑橘全爪螨的校正死亡率达100%。

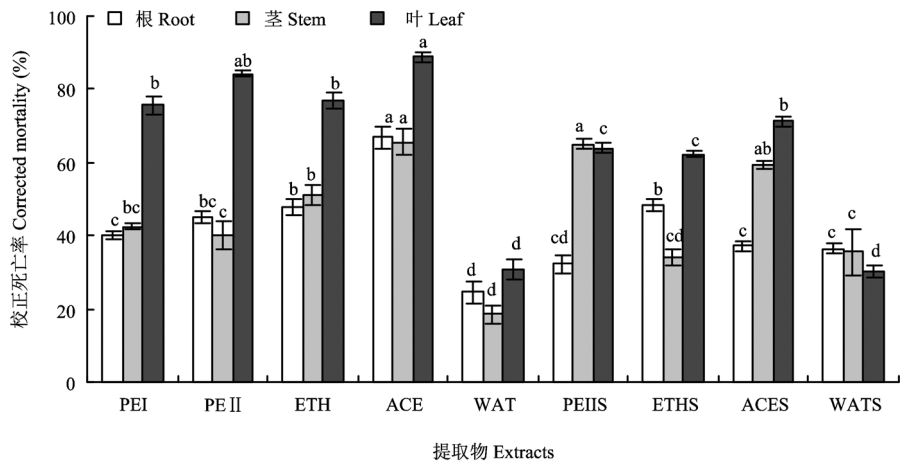
2.2 黄花蒿几种提取物对柑橘全爪螨的毒力回归分析

分别选择了黄花蒿6月份和7月份对柑橘全爪螨杀螨活性最高的丙酮平行提取物为测试材料,测定了它们对柑橘全爪螨的毒力,结果见表1。

从表1中看出,黄花蒿7月份叶丙酮平行提取物对柑橘全爪螨的生物活性明显高于6月份,对柑橘全爪螨处理48 h后,7月份的LC₅₀(0.4222 mg·ml⁻¹)仅为6月份(0.9489 mg·ml⁻¹)的44%。从其LC₉₅来看,7月份叶的丙酮平行提取物是3.8796 mg·ml⁻¹,6月份为11.2556 mg·ml⁻¹,也就是说7月份叶丙酮平行提取只需6月份34.47%的用量就可达到相同的效果。

2.3 黄花蒿7月叶丙酮提取物柱层析所得不同组分对柑橘全爪螨的杀螨活性比较

采用生物活性追踪法测定黄花蒿7月叶的丙酮提



PEI: 石油醚 30~60℃ 平行提取物; PE II: 石油醚 60~90℃ 平行提取物; ETH: 乙醇平行提取物; ACE: 丙酮平行提取物; WAT: 水平行提取物; PEIIS: 石油醚 60~90℃ 顺序提取物; ETHS: 乙醇顺序提取物; ACES: 丙酮顺序提取物; WATS: 水顺序提取物。图上所标小写字母表示同一植株部位不同溶剂提取物之间的生物活性差异, 相同字母间不存在显著差异, 不同字母间存在显著差异 ($P<0.05$)。下同
PEI: Petroleum ether 30-60℃ parallel extract; PE II: Petroleum ether 60-90℃ parallel extract; ETH: Ethanol parallel extract; ACE: Acetone parallel extract; WAT: Water parallel extracts; PEIIS: Petroleum ether 60-90℃ sequenced extract; ETHS: Ethanol sequenced extract; ACES: Acetone sequenced extract; WATS: Water sequenced extracts. The lowercase letters superscript on this figure stand for the differences of bioactivities of different solvents extracts from the same part of plant individual, there was a significant difference between the representatives of different letters, with the same letter there is no significant difference. The same as below

图 1 6 月份黄花蒿不同溶剂不同部位提取物对柑橘全爪螨的触杀活性 (5 mg·ml⁻¹, 48 h)

Fig. 1 The acaricidal bioactivities of different solvents and different extracts from different parts of *A. annua* in June against *P. citri* (5 mg·ml⁻¹, 48 h)

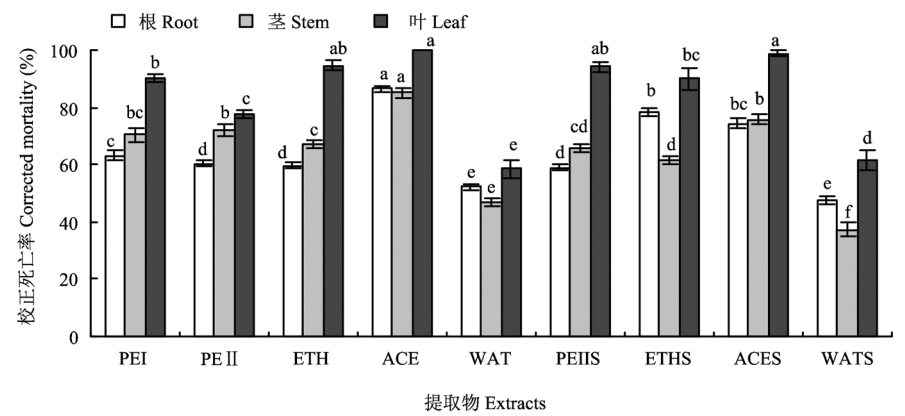


图 2 7 月份黄花蒿不同溶剂不同部位提取物对柑橘全爪螨的触杀活性 (5 mg·ml⁻¹, 48 h)

Fig. 2 The acaricidal bioactivities of different solvents and different extracts from different parts of *A. annua* in July against *P. citri*

表 1 6 月份和 7 月份黄花蒿叶平行提取物对柑橘全爪螨的毒力 (48 h)

月份	毒力回归直线	相关系数	LC ₅₀ 及其 95%置信区间	LC ₉₅ 及其 95%置信区间
Month	Toxicity regression linear	Correlate coefficient	LC ₅₀ and its 95% confidence interval (mg·ml ⁻¹)	LC ₉₅ and its 95% confidence interval (mg·ml ⁻¹)
6 June	$y=1.8594+1.0549x$	0.9684	0.9489(0.6016~1.4968)	11.2556(8.5526~14.2258)
7 July	$y=0.5166+1.7076x$	0.9732	0.4222(0.3483~0.5117)	3.8796(3.2008~4.7023)

取物柱层析所得不同组分对柑橘全爪螨的杀螨活性, 结果见表 2。从中可以看出, 在最终分离出的 20 种组分中, 组分 17 的杀螨活性最高, 处理 48 h, 校正死亡率达到 96.65%, 与其它组分的杀螨活性存在显著差异 ($P<0.05$); 组分 8 的活性次之, 低于 17 组分, 但均高于其它组分的杀螨活性, 与其它组分生物活性间亦存在显著差异。

对活性较高的第 17 和 8 组分进行了毒力回归分析, 结果列于表 3。从中看出, 处理 48 h, 组分 17 和组分 8 对柑橘全爪螨的 LC_{50} 分别为 0.2526 和 0.3933 $mg\cdot ml^{-1}$, 而 7 月叶丙酮提取物的 LC_{50} 为 0.4222 $mg\cdot ml^{-1}$, 组分 17 的活性相对于丙酮提取物而言提高大约 1.6 倍; 而组分 8 对柑橘全爪螨处理 48 h, 其 LC_{50} 为 0.3933 $mg\cdot ml^{-1}$, 与提取物本身的 LC_{50} 相差不大。

表 2 黄花蒿 7 月叶丙酮平行提取物柱层析组分对柑橘全爪螨杀螨活性 (5 $mg\cdot ml^{-1}$, 48 h)
Table 2 The acaricidal activities against *P. citri* of the group compounds separated from acetone extract of leaves of *A. annua* in July by column chromatography

不同组分 Different groups	校正死亡率 Corrected mortality (%)		校正死亡率 95%置信区间 95% Confidence interval of corrected mortality (%)	
	48 h	72 h	48 h	72 h
1	31.53 ghi	52.34 efg	27.34~35.71	51.05~53.64
2	35.68 g	55.19 e	32.65~38.70	54.35~56.02
3	58.10 d	66.90 d	54.00~62.19	61.47~72.32
4	59.96 d	79.31 c	53.00~66.92	75.49~83.14
5	77.98 c	85.31 b	77.12~78.84	81.03~89.59
6	26.96 ij	46.70 h	22.69~31.22	42.97~50.44
7	29.61 hij	49.35 fgh	24.66~34.55	44.28~54.42
8	84.02 b	93.61 a	74.75~93.29	88.31~98.92
9	77.35 c	80.66 c	70.52~84.19	77.61~83.71
10	25.73 j	48.47 gh	20.35~31.11	44.04~52.89
11	36.57 g	57.27 e	32.79~40.36	52.32~62.23
12	34.32 gh	55.30 e	21.08~47.56	41.28~69.33
13	49.70 f	70.12 d	41.63~57.77	61.07~79.16
14	35.46 g	54.61 ef	23.25~47.67	43.61~65.61
15	31.99 ghi	52.17 efg	26.96~37.01	42.82~61.52
16	26.34 j	46.64 h	22.77~29.91	43.01~50.26
17	95.65 a	98.85 a	95.42~95.89	95.42~102.68
18	75.38 c	86.63 b	62.79~87.98	80.74~92.52
19	55.00 de	76.43 c	49.53~60.46	71.09~81.76
20	50.75 ef	71.60 d	40.86~60.65	60.52~82.69

同列数据后标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$, 邓肯新复极差测验)
The data in the same column followed by different small letters differ significantly ($P<0.05$, Duncan multiple mean test)

表 3 黄花蒿 7 月叶丙酮平行提取物和分离的第 17 和 8 组分对柑橘全爪螨的毒力回归分析
Table 3 The toxicity regression analysis of the acaricidal activities of group 17 and 8 of *A. annua* leaves in July acetone parallel extract against *P. citri* (48 h)

处理 Treatments	毒力回归直线 Toxicity regression linear	相关系数 Correlation coefficient	致死中浓度及其 95%置信限 LC_{50} and its 95% confidence interval ($mg\cdot ml^{-1}$)	LC_{95} 及其 95%置信限 LC_{95} and its 95% confidence interval ($mg\cdot ml^{-1}$)
提取物 Extract	$y=0.5166+1.7076x$	0.9732	0.4222(0.3483~0.5117)	3.8796(3.2008~4.7023)
第 17 组分 the 17th group	$y=0.3412+1.9392x$	0.9774	0.2526 (0.2181~0.2925)	1.7808(1.5379~2.0621)
第 8 组分 the 8th group	$y=1.5387+1.3340x$	0.9251	0.3933 (0.3137~0.4931)	6.7265(5.3652~8.4332)

组分 17 对柑橘全爪螨生物活性较高,有待进一步深入研究。

3 讨论

鉴于笔者前期工作^[10-11]的研究中,已经证实黄花蒿 6 月份和 7 月份植株表现出对朱砂叶螨的杀螨活性相对较高,为避免重复工作,本文仅报道了这两个月份黄花蒿植株对柑橘全爪螨的生物活性。7 月份黄花蒿植株的不同部位表现出较 6 月份强的生物活性,单就植株的不同部位来说,叶的提取物活性最强,研究结果与张永强等^[11]报道的对朱砂叶螨的生物活性相似。7 月叶丙酮平行提取物对柑橘全爪螨在 5 mg·ml⁻¹ 处理 48 h 后,校正死亡率达 100%。

同一植物的不同生长期,植物经受的环境条件不同,其次代谢产物的种类和含量可能不同^[18],7 月份是黄花蒿营养生长的关键时期,其自身合成的以保护自身生长而不被外界有害生物为害的次生代谢产物含量也会随之升高。并且朱砂叶螨和柑橘全爪螨均是叶螨科的重要植食性害螨,其为害方式相似,寄主范围重叠严重^[19-22]。所以 7 月份黄花蒿叶的丙酮平行提取物表现出对朱砂叶螨^[6]和柑橘全爪螨较强的生物活性。而有关其毒理学证据有待进一步的试验考证。

随后,对活性最高的黄花蒿 7 月份叶丙酮平行提取物进行柱层析分离,结合详尽的生物测定,在最终分离出的 20 种组分中,组分 17 的杀螨活性最高,处理 48 h,校正死亡率达到 96.65%,与其他组分的杀螨活性存在显著差异 ($P < 0.05$)。组分 17 对柑橘全爪螨的 LC₅₀ 为 0.2526 mg·ml⁻¹,而 7 月叶丙酮提取物的 LC₅₀ 为 0.4222 mg·ml⁻¹,组分 17 的活性相对于丙酮提取物而言提高大约 1.6 倍。组分 17 对柑橘全爪螨生物活性较高,有待进一步深入研究。这一结果为进一步从黄花蒿中筛选、分离和鉴定杀螨活性成分奠定了基础,为开发利用中国丰富的黄花蒿资源,为寻找柑橘全爪螨防治新药剂具有重要的参考价值。

4 结论

研究表明,7 月份黄花蒿植株的不同部位表现出较 6 月份强的生物活性,单就植株的不同部位来说,叶的提取物活性最强。7 月叶丙酮平行提取物对柑橘全爪螨在 5 mg·ml⁻¹ 处理 48 h 后,校正死亡率达 100%。对活性最高的黄花蒿 7 月份叶丙酮平行提取物采用柱层析分离出 20 个组分,其中组分 17 的杀螨活性最高,处理 48 h 和 72 h 后,校正死亡率分别达到 96.65%和

98.85%,与其它组分的杀螨活性存在显著差异 ($P < 0.05$),且组分 17 对柑橘全爪螨的 LC₅₀ 仅为 0.2526 mg·ml⁻¹,因此组分 17 对柑橘全爪螨生物活性较高,其具体的杀螨活性物质有待进行深入研究。

References

- [1] 雷慧德,胡军华,李鸿筠,冉春,张权炳,林邦茂,田文华,钱克明. 不同柑桔品种上桔全爪螨的生长和种群动态差异. 昆虫学报, 2004, 47(5): 607-611.
Lei H D, Hu J H, Li H J, Ran C, Zhang Q B, Lin B M, Tian W H, Qian K M. Performances of the citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Acarina: Tetranychidae) on various citrus varieties. *Acta Entomologica Sinica*, 2004, 47(5): 607-611. (in Chinese)
- [2] 黄振东,陈道茂,陈国庆,严得胜. 三唑锡防治柑桔全爪螨及其安全性试验. 中国果树, 2002, (5): 28-29.
Huang Z D, Chen D M, Chen G Q, Yan D S. Control effect of azocyclotin on *Panonychus citri* and safety assessment. *China Fruit*, 2005, (5): 28-29. (in Chinese)
- [3] 储春荣,陈绍彬,张春晓,蔡健华,朱裕忠. 24%螺螨酯悬浮剂防治柑桔全爪螨药效试验. 现代农药, 2007, 6(5): 49-50.
Chu C R, Chen S B, Zhang C X, Cai J H, Zhu Y Z. Effect of 24% spirodiclofen SC to control *Panonychus citri* in citrus. *Modern Agrochemicals*, 2007, 6(5): 49-50. (in Chinese)
- [4] Curkovic T, Araya J E. Acaricidal action of two detergents against *Panonychus ulmi* (Koch) and *Panonychus citri* (McGregor) (Acarina: Tetranychidae) in the laboratory. *Crop Protection*, 2004, 23: 731-733.
- [5] 王学贵,张敏,蒋素蓉. 乙螨唑及其复配制剂防治柑桔全爪螨的田间试验初报. 现代农药, 2005, 4(3): 33-35.
Wang X G, Zhang M, Jiang S R. The field trial of the etoxazole and its mixing with fenpropathrin against *Panonychus citri*. *Modern Agrochemicals*, 2005, 4(3): 33-35. (in Chinese)
- [6] Eckstein-Ludwig U, Webb R J, van Goethem I D A, East J M, Lee A G, Kimura M, O'Neill P M, Bray P G, Ward S A, Krishna S. Artemisinins target the SERCA of *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 2003, 424: 957-961.
- [7] Youn H J, Noh J W. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. *Veterinary Parasitology*, 2001, 96: 257-263.
- [8] van der Kooy F, Verpoorte R, Marion Meyer J J. Metabolomic quality control of claimed anti-malarial *Artemisia afra* herbal remedy and *A. afra* and *A. annua* plant extracts. *South African Journal of Botany*, 2008, 74: 186-189.
- [9] Longo M, Zanoncelli S, Colombo P A, Brughera M, Mazuè G, Oliario

- P. Embryotoxicity of artemisinin-type compounds. *Reproductive Toxicology*, 2008, 26(1): 66-67.
- [10] Zhang Y Q, Ding W, Zhao Z M, Wu J, Fan Y H. Studies on acaricidal bioactivities of *Artemisia annua* L. Extracts against *Tetranychus cinnabarinus* Bois. (Acari: Tetranychidae). *Agricultural Sciences in China*, 2008, 7(5): 577-584.
- [11] 张永强, 丁 伟, 赵志模, 吴 静, 樊钰虎. 黄花蒿提取物对朱砂叶螨生物活性的研究. *中国农业科学*, 2008, 41(3): 720-726.
- Zhang Y Q, Ding W, Zhao Z M, Wu J, Fan Y H. Studies on acaricidal bioactivities of *Artemisia annua* L. extracts against *Tetranychus cinnabarinus* Bois. (Acari: Tetranychidae). *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(3): 720-726. (in Chinese)
- [12] 韩建勇, 曾鑫年, 杜利香. 白花丹根提取物的杀螨活性. *植物保护学报*, 2004, 31(1): 85-90.
- Han J Y, Zeng X N, Du L X. Acaricidal activity of root extracts of *Plumbago zeylanica* L. *Acta Phyto-Phylacica Sinica*, 2004, 31(1): 85-90. (in Chinese)
- [13] 周顺玉, 蒋春先, 杨群芳, 李 庆. 3 种物质对七叶一枝花防治柑桔全爪螨的增效作用. *安徽农业科学*, 2007, 35(17): 5199-5200.
- Zhou S Y, Jiang C X, Yang Q F, Li Q. Synergistic effect of three substances on *Paris polyphylla* Smith against *Panonychus citri* McGregor. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(17): 5199-5200. (in Chinese)
- [14] 张永强, 丁 伟, 赵志模, 王进军, 廖涵杰. 姜黄对朱砂叶螨的生物活性. *植物保护学报*, 2004, 31(4): 390-394.
- Zhang Y Q, Ding W, Zhao Z M, Wang J J, Liao H J. Research on acaricidal bioactivities of turmeric, *Curcuma long*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2004, 31(4): 390-394. (in Chinese)
- [15] 张永强, 丁 伟, 吴 静, 赵志模. 3 种杀螨剂生物测定方法的比较研究. *农药科学与管理*, 2007, 28(7): 50-53.
- Zhang Y Q, Ding W, Wu J, Zhao Z M. Comparison of three acaricide bioassay methods. *Pesticide Science and Administration*, 2007, 28(7): 50-53. (in Chinese)
- [16] Finney D J. *Probit Analysis* (3rd Ed). Cambridge: Cambridge University Press, 1971.
- [17] SAS Institute. SAS OnlineDoc[®], Version 8. 01. Statistical Analysis System Institute, Cary, North Carolina, 2000.
- [18] 吴文君. 从天然产物到新农药创制——原理·方法. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- Wu W J. *From Natural Products to New Pesticides Creation—Principle & Method*. Beijing: Chemical Industry Press, 2006. (in Chinese)
- [19] 何 林, 赵志模, 邓新平, 王进军, 刘 怀, 刘映红. 朱砂叶螨对 3 种杀螨剂的抗性选育及抗性治理研究. *中国农业科学*, 2003, 36(4): 403-408.
- He L, Zhao Z M, Deng X P, Wang J J, Liu H, Liu Y H. Resistance selection of *Tetranychus cotnabarinus* to three acaricides and its management strategy. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(4): 403-408. (in Chinese)
- [20] Shi W B, Zhang L, Feng M G. Time-concentration-mortality responses of carmine spider mite (Acari: Tetranychidae) females to three hypocrealean fungi as biocontrol agents. *Biological Control*, 2008, 46: 495-501.
- [21] Shi W B, Feng M G. Field efficacy of application of *Beauveria bassiana* formulation and low rate pyridaben for sustainable control of citrus red mite *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) in orchards. *Biological Control*, 2006, 39: 210-217.
- [22] Szejnberg A, Paz Z, Boekhout T, Gafni A, Gerson U. A new fungus with dual biocontrol capabilities: reducing the numbers of phytophagous mites and powdery mildew disease damage. *Crop Protection*, 2004, 23(11): 1125-1129.

(责任编辑 毕京翠)