

东莨菪内酯与双脱甲氧基姜黄素对朱砂叶螨致死效应模拟*

杨振国 张永强** 丁伟 罗金香

(西南大学植物保护学院,重庆 400716)

摘要 采用玻片浸渍法测定了植物源杀螨活性物质东莨菪内酯、双脱甲氧基姜黄素及两者联合作用最佳增效配比(东:双=7:6)对朱砂叶螨雌成螨的致死效应,并采用时间-剂量-死亡率(TDM)模型进行模拟.结果表明:所建TDM模型均通过Hosmer-Lemeshow拟合异质性检验.朱砂叶螨雌成螨对3种药剂浓度变化的敏感程度为东莨菪内酯>两者最佳配比>双脱甲氧基姜黄素.双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的致死率高峰期分别为处理后32、28和32h;处理后48h的 LC_{50} 和 LC_{90} 分别为0.3324、0.2035、0.2195 $mg \cdot mL^{-1}$ 和2.1198、0.9521、1.1617 $mg \cdot mL^{-1}$;浓度为1.0和2.0 $mg \cdot mL^{-1}$ 处理下, LT_{50} 分别为7.4、6.0、6.1h和6.4、4.8、5.0h.因此,东莨菪内酯与双脱甲氧基姜黄素最佳配比和东莨菪内酯具有相近的杀螨动态及时间-剂量效应,表现出较好的杀螨活性和增效作用,具有一定的开发利用价值.

关键词 朱砂叶螨 黄花蒿 姜黄 时间-剂量-死亡率模型 杀螨活性

文章编号 1001-9332(2013)01-0197-08 中图分类号 S482.5 文献标识码 A

Lethal effects of scopoletin and bisdemethoxycurcumin against *Tetranychus cinnabarinus* Boisd. (Acari: Tetranychidae): A simulation study. YANG Zhen-guo, ZHANG Yong-qiang, DING Wei, LUO Jin-xiang (College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China). -Chin. J. Appl. Ecol. 2013 24(1): 197-204.

Abstract: By using slide-dip bioassay method under laboratory condition, an investigation was made on the lethal effects of scopoletin, bisdemethoxycurcumin (BDMC), and their combination at an optimal mass ratio (7:6) of scopoletin to BDMC against the adult females of *Tetranychus cinnabarinus* Boisd. A time-dose mortality model (TDM) was established, which passed the Hosmer-Lemeshow test. The sensitivity of the adult females to the concentration change of the acaricides was in the sequence of scopoletin > optimal mass ratio of scopoletin to BDMC > BDMC. The peak mortality of the female adults was found at 32, 28 and 32 h after treated with BDMC, scopoletin, and their combination at the optimal mass ratio, respectively. The values of the LC_{50} and LC_{90} at 48 h after treated with BDMC, scopoletin, and their combination at the optimal mass ratio were 0.3324, 0.2035 and 0.2195 $mg \cdot mL^{-1}$, and 2.1198, 0.9521 and 1.1617 $mg \cdot mL^{-1}$, and the median lethal time (LT_{50}) of BDMC, scopoletin, and their combination at the optimal mass ratio was 7.4, 6.0 and 6.1 h at the concentration 1.0 $mg \cdot mL^{-1}$, and 6.4, 4.8 and 5.0 h at the concentration 2.0 $mg \cdot mL^{-1}$, respectively. The acaricidal activity and time-dose response of the optimal combination of scopoletin and BDMC were closer to those of scopoletin, suggesting a synergistic acaricidal activity of the combination of scopoletin and BDMC, which was worthy to be developed for application.

Key words: *Tetranychus cinnabarinus*; *Artemisia annua*; *Curcuma longa*; time-dose mortality model; acaricidal activity.

* 科技部农业科技成果转化基金项目(2010GB2F100388)和教育部博士点新教师基金项目(20100182120021)资助.

** 通讯作者. E-mail: zhangyq80@tom.com

2012-03-23 收稿, 2012-11-08 接受.

朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus*) 为杂食性世界性害螨, 其个体小、发育快、繁殖力强、易产生抗药性, 严重危害 100 多种作物^[1]. 化学杀螨剂的频繁使用不仅严重污染环境, 而且使害螨抗药性日益加重, 寻找新型的多靶标、低抗性杀螨物质是亟待解决的重要研究课题.

从黄花蒿 (*Artemisia annua*) 7 月份叶的丙酮提取物分离出对朱砂叶螨和柑橘全爪螨 (*Panonychus citri*) 具有较强触杀活性的物质——东莨菪内酯^[2-4]. 从瑞香狼毒 (*Stellera chamaejasme*) 乙酸乙酯提取物中分离出的东莨菪内酯对朱砂叶螨具有较强触杀和内吸活性, 能够显著抑制螨体内的乙酰胆碱酯酶 (AChE)、单胺氧化酶 (MAO)、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶及 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶的活性, 可能为神经毒剂^[5-6]. 在朱砂叶螨 70% 死亡率的选择压力下, 采用东莨菪内酯筛选 18 代朱砂叶螨未表现出抗性趋势^[7], 其亚致死剂量能够降低朱砂叶螨种群发育和繁殖速率^[8]. 源于中药姜黄 (*Curcuma longa*) 中的双脱甲氧基姜黄素对朱砂叶螨的雌成螨、若螨、卵具有较强的触杀、驱避及产卵抑制活性^[9-10], 主要抑制螨体内的超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽-S-转移酶 (GSTs)、过氧化氢酶 (CAT) 的活性^[11].

东莨菪内酯和双脱甲氧基姜黄素联合作用对朱砂叶螨雌成螨的触杀活性最佳配比为 7 : 6 (质量比), 处理后 48 h 的 LC_{50} 为 $0.1899 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 共毒系数为 129.0, 增效 29.0%, 有效提高了对朱砂叶螨雌成螨、若螨、幼螨及卵的触杀活性, 同时兼具一定的内吸、驱避及产卵抑制活性 (另文报道). 东莨菪内酯、双脱甲氧基姜黄素及最佳配比的杀螨活性已得到证实, 但杀螨致死动态、致死高峰期及时间-剂量效应尚不清楚. 为此, 本研究采用时间-剂量-死亡率 (time-dose-mortality, TDM) 模型研究东莨菪内酯、双脱甲氧基姜黄素及其最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的触杀活性的致死效应, 以期掌握东莨菪内酯与双脱甲氧基姜黄素联合作用对朱砂叶螨的致死动态及时间-剂量的互作效应, 进一步明确联合作用致死规律, 为东莨菪内酯与双脱甲氧基姜黄素联合作用的田间应用提供理论指导.

1 材料与方 法

1.1 供试螨类

供试朱砂叶螨最初采自重庆市北碚区田间豇豆苗, 于智能人工气候室内在 $(26 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 、相对湿度 (RH) 60% ~ 80% 及光周期 14L : 10D 下用蛭石盆

栽豇豆苗饲养 13 年, 获得其未接触任何农药的敏感品系.

1.2 供试药剂

74.5% 东莨菪内酯 (scopoletin) 为西南大学天然产物农药研究室于 2011 年 7 月采集的黄花蒿叶中分离纯化所得; 90% 双脱甲氧基姜黄素 (bisdemethoxycurcumin) 购自河北食品添加剂有限公司. 最佳配比为 74.5% 东莨菪内酯和 90% 双脱甲氧基姜黄素按质量比为 7 : 6 混合. 试验时取适量的供试药剂, 加入 5% 丙酮令其充分溶解, 再用 0.1% 吐温 80 水溶液稀释成 2.0、1.0、0.5、0.25 和 0.125 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 梯度溶液作为供试液, 以 0.1% 吐温 80 水溶液加入 5% 丙酮的混合液为对照.

1.3 触杀活性试验

触杀活性试验采用玻片浸渍法^[12], 将双面胶剪成 2 cm 长, 贴于载玻片的一端, 用零号毛笔挑取大小一致、颜色鲜艳的活泼雌成螨, 将其背部粘于双面胶上, 挑好后置于原饲养条件下 4 h 后, 用双目解剖镜检查, 剔除死亡和不活泼的个体. 每片 30 头, 每个浓度和对照处理各 120 头成螨, 3 次重复. 将粘于玻片上的害螨浸入供试液中轻轻振荡 5 s 后取出, 用吸水纸吸去螨体周围多余药液, 然后放回原饲养条件中, 每 4 h 检查一次害螨死亡情况, 用零号毛笔轻触螨体, 以其螯肢不动者为死亡, 连续观察 2 d.

1.4 数据分析

TDM 模型按其数学结构又称互补重对数模型 (complementary log-log model, CLL)^[13-14]. 模型给出某供试生物在任意时间 $t_j (j = 1, 2, 3, \dots, J)$ 被供试因子 (药剂) 的剂量 $d_i (i = 1, 2, 3, \dots, I)$ 处理后的累计死亡率 (cumulative mortality probability) 可表示为:

$$P_{ij} = 1 - \exp[-\exp(\tau_j + \beta \lg d_i)] \quad (1)$$

式中: 待估参数 β 可描述“假设存在的每个关键生物受体所接受的活性分子的平均数目”或剂量效应的斜率; τ_j 描述截止于时间 t_j 的待估时间效应参数; $\tau_j + \beta \lg d_i$ 与 $\ln[-\ln(1 - P_{ij})]$ 具有线性关系, 称为线性预测因子 (linear predictor). 累计死亡率是连续性时间变量的非独立性变量, 故式 (1) 不能满足模型模拟的独立性假设. 若时间区间 $[t_{j-1}, t_j]$ 足够短, 且各区间相互独立, 则剂量 d_i 使试虫在时间区间 $[t_{j-1}, t_j]$ 内可能发生的死亡率即为时间变量的独立性变量, 可进行模型拟合. 该死亡率称为条件死亡率 (conditional mortality probability), 即区间结束时的实际死亡数与区间起始时的存活数之比, 可表示为:

$$q_{ij} = 1 - \exp[-\exp(\gamma_j + \beta \lg d_i)] \quad (2)$$

式中: γ_j 为描述时间区间 $[t_{j-1}, t_j]$ 内时间效应的待估参数. 获得参数 γ_j 后可估计参数 τ_j , 并以此估计式(1)中的其他参数. γ_j 和 τ_j 满足以下关系:

$$\tau_j = \ln\left(\sum_{k=1}^j \exp \gamma_k\right) \quad (3)$$

采用 DPS 数据处理系统软件对触杀活性试验数据进行 TDM 模型模拟及时间-剂量效应参数估计. 采用 Pearson 卡方检验和 Hosmer-Lemeshow 检验对所建模型拟合优度检验^[15]. 图表中数据为平均值 \pm 标准误.

2 结果与分析

2.1 朱砂叶螨死亡趋势

不同浓度的双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨处理后不同时间累计死亡率见图 1. 各处理的累计死亡率随着浓度的降低而递减, 随处理后时间的延长而递增. 2.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的累计死亡率迅速递增时间分别始于处理后 16、8 和 8 h, 分别于处理后 32、28 和 28 h 达到致死递增高峰. 处理后 48 h 的累计死亡率分别为 89.1%、96.1% 和 92.5%; 处理浓度低于 0.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的累计死亡率递增时间相近. 据各处理累计死亡率递增时间和观察终止累计死亡率可知, 两者最佳配比与东莨菪内酯对朱砂叶螨雌成螨的毒力相近. 浓度变化对累计死亡率的敏感次序为东莨菪内酯 > 两者最佳配比 > 双脱甲氧基姜黄素.

2.2 TDM 模型模拟

表 1 表明, 经 t 检验, 3 种药剂的时间和剂量参数均达到显著水平 ($P < 0.01$), 即标准误相对于参数估计值极小. 剂量效应与时间效应极显著, 条件死亡率是时间的相关函数. 双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比的剂量效应斜率 β 分别为 1.4923、1.7913 和 1.6591, 即朱砂叶螨雌成螨对三者浓度变化的敏感次序为东莨菪内酯 > 两者最佳配比 > 双脱甲氧基姜黄素. 时间效应参数 γ_j 估计值表明, 双脱甲氧基姜黄素和两者最佳配比的 γ_{32} 与东莨菪内酯的 γ_{28} 和 γ_{32} 在各自的模型参数值中最大, 即双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的致死率高峰期分别为处理后 32、28 和 32 h. 模型拟合结果与试验观察相吻合(图 1).

表 2 表明, 所建模型均通过 Hosmer-Lemeshow

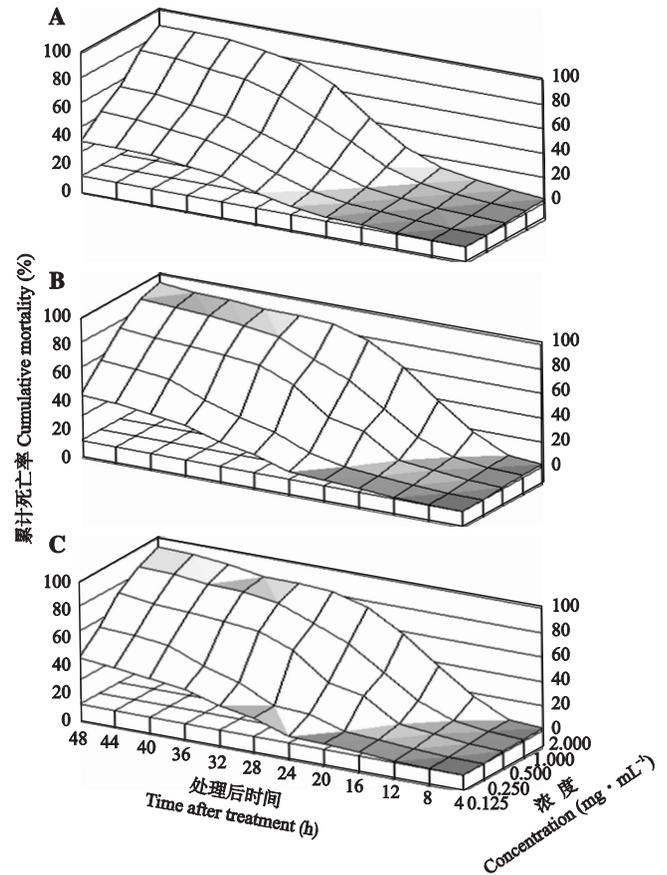


图 1 东莨菪内酯与双脱甲氧基姜黄素对朱砂叶螨雌成螨的时间-剂量-死亡率关系

Fig. 1 Time-dose-mortality relationship for scopoletin and bisdemethoxycurcumin against female adults of *Tetranychus cinnabarinus*.

A: 双脱甲氧基姜黄素 Bisdemethoxycurcumin; B: 东莨菪内酯 Scopoletin; C: 两者最佳配比 Combination at the optimal mass ratio. 下同 The same below.

拟合异质性检验, 仅双脱甲氧基姜黄素对朱砂叶螨雌成螨的 TDM 模型的 Pearson 卡方统计量不显著 ($\chi^2 < \chi_{0.05}^2, P > 0.05$). Nowierski 等^[13] 提出, 模型的 Hosmer-Lemeshow 统计量显著性水平 $P \geq 0.05$, 则可认为数据拟合成功. 因此, 本研究所建模型通过 Hosmer-Lemeshow 检验, 表明模型拟合异质性不显著, 能够无偏地描述双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的时间与剂量的互作关系.

2.3 剂量效应

双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨处理后不同时间的剂量效应估计值见图 2. 随着处理后时间的延长, 达到相同致死水平所需的药液浓度递减, 即双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的 LC_{50} 和 LC_{90} 值为处理后时间的负相关函数, 处理后

表 1 东莨菪内酯与双脱甲氧基姜黄素对朱砂叶螨雌成螨的 TDM 模型模拟与时间-剂量效应参数估计

Table 1 Dose-and time-effect parameters estimated from the time-dose-mortality data of scopoletin and bisdemethoxycurcumin against female adults of *Tetranychus cinnabarinus*

杀虫剂 Insecticide	条件死亡率模型 [式 (2)] Conditional mortality model [Eq. (2)]					累计死亡率模型 [式 (1)] Cumulative mortality model [Eq. (1)]			
	参数 Parameter	估计值 Value	标准误 SE	t 检验 t-test	P	参数 Parameter	估计值 Value	方差 Variance (τ_i)	协方差 Covariance (β, τ_i)
东莨菪内酯 Scopoletin	β	1.7913	0.1398	12.8086	0.0001	β	1.7913	0.0219	0.0219
	γ_4	-4.3577	0.4535	9.6087	0.0001	τ_4	-4.3577	0.2304	-0.0006
	γ_8	-4.5666	0.5069	9.0096	0.0001	τ_8	-3.7636	0.1280	-0.0007
	γ_{12}	-2.7268	0.2048	13.3115	0.0001	τ_{12}	-2.4233	0.0344	-0.0002
	γ_{16}	-2.1237	0.1611	13.1839	0.0001	τ_{16}	-1.5692	0.0158	0.0001
	γ_{20}	-1.3569	0.1226	11.0635	0.0001	τ_{20}	-0.7643	0.0083	0.0011
	γ_{24}	-1.5527	0.1566	9.9130	0.0001	τ_{24}	-0.3895	0.0066	0.0012
	γ_{28}	-0.9699	0.1361	7.1287	0.0001	τ_{28}	0.0550	0.0055	0.0028
	γ_{32}	-0.9584	0.1548	6.1928	0.0001	τ_{32}	0.3646	0.0052	0.0038
	γ_{36}	-1.5178	0.2256	6.7267	0.0001	τ_{36}	0.5063	0.0052	0.0044
	γ_{40}	-1.3563	0.2194	6.1823	0.0001	τ_{40}	0.6507	0.0053	0.0048
	γ_{44}	-1.1461	0.2104	5.4462	0.0001	τ_{44}	0.8041	0.0053	0.0052
	γ_{48}	-1.8492	0.3224	5.7350	0.0001	τ_{48}	0.8722	0.0053	0.0053
	双脱甲氧基姜黄素 Bisdemethoxycurcumin	β	1.4923	0.1503	9.9306	0.0001	β	1.4923	0.0104
γ_4		-4.1516	0.4148	10.0098	0.0001	τ_4	-4.1516	0.0791	-0.0002
γ_8		-4.5410	0.5084	8.9326	0.0001	τ_8	-3.6343	0.0475	-0.0002
γ_{12}		-3.7124	0.3349	11.0858	0.0001	τ_{12}	-2.9795	0.0247	0.0004
γ_{16}		-3.2407	0.2692	12.0391	0.0001	τ_{16}	-2.4084	0.0142	0.0006
γ_{20}		-2.7367	0.2137	12.8057	0.0001	τ_{20}	-1.8660	0.0085	0.0006
γ_{24}		-1.6108	0.1313	12.2672	0.0001	τ_{24}	-1.0371	0.0042	0.0007
γ_{28}		-1.4568	0.1376	10.5907	0.0001	τ_{28}	-0.5319	0.0029	0.0010
γ_{32}		-1.2817	0.1429	8.9703	0.0001	τ_{32}	-0.1450	0.0024	0.0013
γ_{36}		-1.4669	0.1729	8.4850	0.0001	τ_{36}	0.0914	0.0022	0.0015
γ_{40}		-2.0389	0.2461	8.2845	0.0001	τ_{40}	0.2036	0.0022	0.0017
γ_{44}		-2.0695	0.2636	7.8500	0.0001	τ_{44}	0.3016	0.0021	0.0018
γ_{48}		-2.7649	0.3924	7.0460	0.0001	τ_{48}	0.3472	0.0021	0.0019
两者最佳配比 Combination at the optimal mass ratio		β	1.6591	0.1388	11.9537	0.0001	β	1.6591	0.0219
	γ_4	-4.3870	0.4541	9.6609	0.0001	τ_4	-4.3870	0.2342	-0.0004
	γ_8	-4.5966	0.5074	9.0583	0.0001	τ_8	-3.7932	0.1300	-0.0005
	γ_{12}	-2.7595	0.2049	13.4671	0.0001	τ_{12}	-2.4552	0.0349	0.0001
	γ_{16}	-2.1635	0.1612	13.4205	0.0001	τ_{16}	-1.6056	0.0160	0.0003
	γ_{20}	-1.4575	0.1258	11.5900	0.0001	τ_{20}	-0.8357	0.0086	0.0011
	γ_{24}	-1.4316	0.1413	10.1329	0.0001	τ_{24}	-0.3967	0.0065	0.0017
	γ_{28}	-1.1470	0.1420	8.0771	0.0001	τ_{28}	-0.0099	0.0055	0.0029
	γ_{32}	-1.1258	0.1580	7.1259	0.0001	τ_{32}	0.2735	0.0052	0.0038
	γ_{36}	-1.5387	0.2129	7.2284	0.0001	τ_{36}	0.4247	0.0052	0.0044
	γ_{40}	-1.4547	0.2124	6.8503	0.0001	τ_{40}	0.5668	0.0051	0.0048
	γ_{44}	-1.4774	0.2286	6.4642	0.0001	τ_{44}	0.6886	0.0051	0.0050
	γ_{48}	-2.5790	0.4196	6.1470	0.0001	τ_{48}	0.7260	0.0052	0.0051

参数 γ 和 τ 的下标表示处理后时间 (h) The subscript associated with γ and τ denoted time after treatment (h).

表 2 TDM 模型拟合优度

Table 2 TDM modeling goodness of fit

处理 Treatment	Pearson 卡方检验 Pearson's chi-square test				Hosmer-Lemeshow 检验 Hosmer-Lemeshow test			
	χ^2	df	P	$\chi^2_{0.05}$	χ^2	df	P	$\chi^2_{0.05}$
A	40.467	47	0.7716		7.401	8	0.4940	
B	96.871	47	0.0001	64.001	8.370	8	0.3186	15.507
C	94.368	47	0.0001		9.675	8	0.2886	

A: 双脱甲氧基姜黄素 Bisdemethoxycurcumin; B: 东莨菪内酯 Scopoletin; C: 两者最佳配比 Combination at the optimal mass ratio. 下同 The same below.

表 3 TDM 模型法与机率值分析法对处理后 48 h 的 LC_{50} 和 LC_{90} 估计值比较Table 3 Comparison of the values of LC_{50} and LC_{90} estimated by TDM modeling technique and probit analysis

处理 Treatment	LC_{50} ($mg \cdot mL^{-1}$)			LC_{90} ($mg \cdot mL^{-1}$)		
	机率值分析法 Probit analysis	TDM 模型法 TDM model	相对误差 Relative error (%)	机率值分析法 Probit analysis	TDM 模型法 TDM model	相对误差 Relative error (%)
A	0.3036±0.0350	0.3324±0.0350	-9.5	2.5890±0.2985	2.1198±0.1477	22.1
B	0.1894±0.0236	0.2035±0.0513	-7.4	1.0564±0.1319	0.9521±0.0399	11.0
C	0.1994±0.0267	0.2195±0.0534	-10.1	1.4876±0.1995	1.1617±0.0464	28.1

48 h 的 LC_{50} 和 LC_{90} 分别为 0.3324、0.2035、0.2195 $mg \cdot mL^{-1}$ 和 2.1198、0.9521、1.1617 $mg \cdot mL^{-1}$; 处理后 32 h 之后, 各处理的 LC_{50} 和 LC_{90} 趋于平缓, 表明死亡率在处理前 32 h 变化较大, 后期变化较小; 两者最佳配比减少东莨菪内酯近一倍用量, 但两者 LC_{50} 和 LC_{90} 相近, 表明两者最佳配比与东莨菪内酯毒力相当, 具有较好的杀螨活性和增效作用。

TDM 模型将时间、剂量和死亡率集于同一模型中, 使时间-剂量交互效应得到合理表达。为明确 TDM 模型法与机率值分析法对剂量效应估计值的差异, 两者对处理后 48 h 的 LC_{50} 和 LC_{90} 估计值比较结果见表 3。假设 TDM 模型法的剂量估计值为真值, 机率值分析法对双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比处理后 48 h 的 LC_{50} 和 LC_{90} 估计值的相对误差分别为 -9.5%、-7.4%、-10.1% 和 22.1%、11.0%、28.1%。即 TDM 模型法对低致死率剂量估计值大于机率值分析法的剂量估计值, 高致死率剂量估计值则反之。

2.4 时间效应

TDM 模型模拟得出双脱甲氧基姜黄素、东莨菪

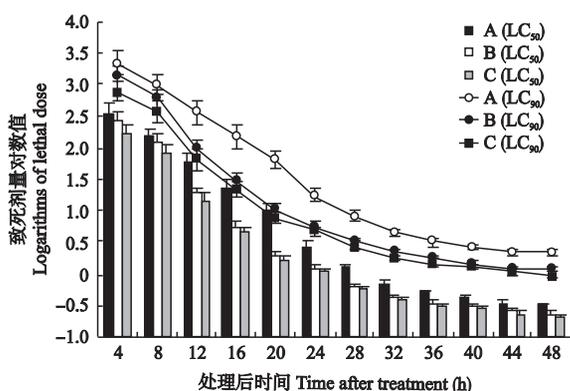


图 2 东莨菪内酯和双脱甲氧基姜黄素对朱砂叶螨雌成螨的 LC_{50} 和 LC_{90} 对数值

Fig. 2 Logarithms of the values of LC_{50} and LC_{90} estimated for scopoletin and bisdemethoxycurcumin against female adults of *Tetranychus cinnabarinus*.

内酯和两者最佳配比不同浓度处理对朱砂叶螨雌成螨的致死中时 LT_{50} (观察终止累计死亡率未达 50% 的处理除外)。图 3 表明, 时间效应与处理剂量呈负相关, 药剂致死 50% 供试害螨的浓度越低, 表明其毒力越强; 相同浓度下, LT_{50} 值越小, 则毒力相对越强。因此, 供试药剂对朱砂叶螨雌成螨的毒力强弱次序为: 东莨菪内酯 > 两者最佳配比 > 双脱甲氧基姜黄素。高浓度处理后, 两者最佳配比与东莨菪内酯的 LT_{50} 相当, 1.0 和 2.0 $mg \cdot mL^{-1}$ 处理后, 双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比的 LT_{50} 分别为 7.4、6.0、6.1 h 和 6.4、4.8、5.0 h。

LT_{50} 为累计死亡概率为 50% 所需的时间 t_j 与不同剂量 d_i 的关系, 条件死亡概率在不同时间区间 $[t_{j-1}, t_j]$ 内和剂量 d_i 的函数关系见式 (2), 其拟合曲线与试验观察值见图 4。图中观测值均匀分布于拟合曲线两侧, 显示出较好的吻合性, 双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比的条件死亡率迅速递增的线性预测因子为 -1.0 ~ 1.0, 即处理后 32 ~ 36 h 条件死亡概率较高。据拟合曲线坡度可知, 3 种药剂对朱砂叶螨雌成螨的毒力和致死时间次序为东莨菪内酯 > 两者最佳配比 > 双脱甲氧基姜黄素。

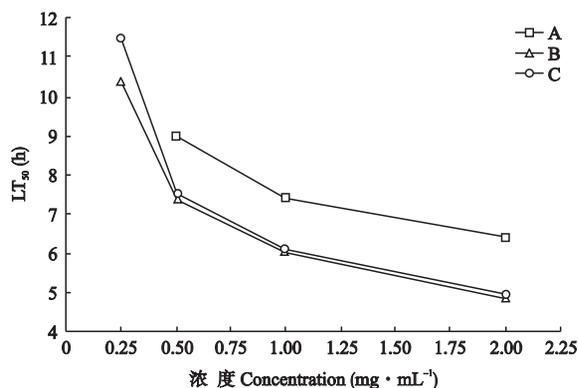


图 3 东莨菪内酯和双脱甲氧基姜黄素对朱砂叶螨雌成螨随剂量而变化的 LT_{50}

Fig. 3 Dose-dependent LT_{50} of scopoletin and bisdemethoxycurcumin against female adults of *Tetranychus cinnabarinus*.

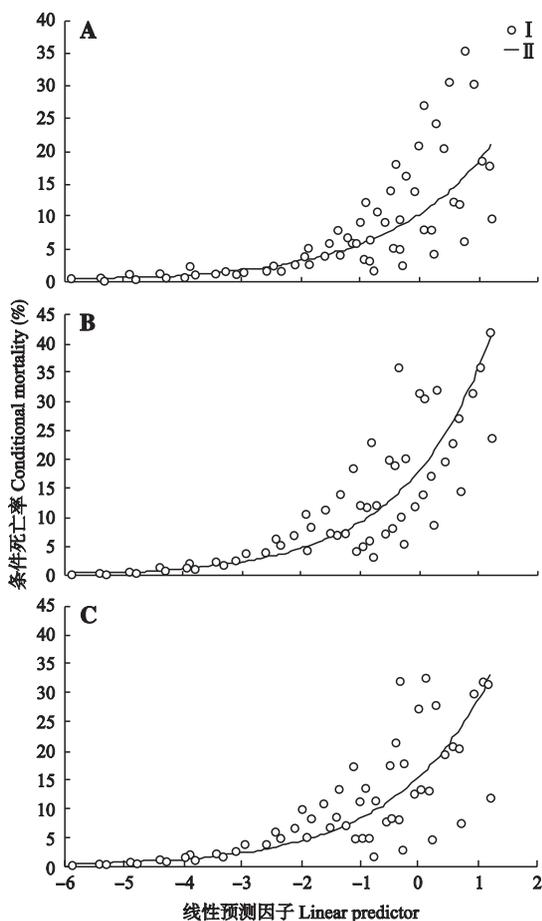


图4 东莨菪内酯和双脱甲氧基姜黄素对朱砂叶螨雌成螨的条件死亡率观测值 (I) 与拟合值 (II) 比较

Fig. 4 Comparison of the observed value (I) and fitted value (II) of conditional mortality probabilities of scopoletin and bisdemethoxycurcumin against female adults of *Tetranychus cinnabarinus*.

3 讨 论

剂量效应和时间效应是评价活性物质生物活性的重要指标,两者互为相关函数^[16]. TDM 模型很大程度上弥补了机率值分析法使剂量和时间效应关系相互独立的缺陷,使时间-剂量互作效应得到合理的表达,更直接明确药剂致死动态规律、致死高峰期、致死剂量等评价指标,在评价微生物源杀虫剂^[17-23]、化学杀虫剂^[24-26]及植物源杀虫剂^[27-28]的毒力、致死规律、敏感程度等方面得到了广泛的应用. 双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的 TDM 模型均通过 Hosmer-Lemeshow 拟合异质性检验,表明该模型适合此类生物测定数据的分析,能够无偏地描述药剂对朱砂叶螨雌成螨的时间-剂量-致死率的互作关系.

双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配

比剂量效应的斜率 (β) 分别为 1.4923、1.7913 和 1.6591,其斜率值均在已报道的多种化学杀虫剂对昆虫的估计范围 (1.2 ~ 4.5) 内^[29],表明双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比的毒力与化学杀虫剂的毒力相当. TDM 模型剂量效应参数 (γ_j) 表明,双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的致死率高峰期分别为处理后 32.28 和 32 h,与观测的死亡高峰期相吻合,进一步表明所建模型的可靠性. 时间与剂量效应表明,随着处理后时间的增加,双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨的 LC_{50} 和 LC_{90} 值逐渐减小,达到致死率高峰期 (处理后 32 h) 后趋于平缓. 因此,以致死浓度比较三者的毒力时应选择在处理后前 32 h. 梁为等^[27]测定东莨菪内酯标准品 ($1.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 对朱砂叶螨雌成螨的 LT_{50} 为 2.237 h,而本研究 1.0 和 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的东莨菪内酯处理朱砂叶螨的 LT_{50} 分别为 6.0 和 4.8 h,其存在差异的原因可能与本研究所用东莨菪内酯含量有关.

TDM 模型法和机率值分析法对处理后 48 h 的 LC_{50} 和 LC_{90} 估计值的差异比较得出,机率值分析法对双脱甲氧基姜黄素、东莨菪内酯和两者最佳配比对朱砂叶螨雌成螨 LC_{50} 和 LC_{90} 的估计值的相对误差分别为 -9.5%、-7.4%、-10.1% 和 22.1%、11.0%、28.1%. 其原因可能与用于估计的数据有关,处理后 48 h,各处理的累计死亡率均大于 50% (除最低浓度 $0.125 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 外),而仅有 1.0 和 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的累计死亡率达到 90% 以上,机率值分析法采用累计死亡率机率值和对数剂量的函数关系式估计致死剂量时,其 LC_{50} 估计值偏小,表现为负相对误差; LC_{90} 估计值偏大,表现为正相对误差. 在机率值分析法中为了减少估计值误差,要求生物测定累计死亡率均匀分布于 16% ~ 84% 范围内,但实际的应用中很难使死亡率均匀分布于这个范围内,因此导致小致死率剂量估计值偏小或大致致死率剂量估计值偏大. TDM 模型法综合时间-剂量-死亡率模拟时间和剂量效应参数,估计出致死剂量是死亡率与时间效应的体现,对于适合 TDM 模型模拟的生物测定数据,其估计结果将会更加完整、准确地体现试验效果的评价指标. 王志明等^[30]认为,支持向量回归 (support vector regression, SVR) 模型和留一法对定量生物测定数据分析的预测精度更优于 TDM 模型法,本文对此不作进一步分析.

综上所述,东莨菪内酯与双脱甲氧基姜黄素联合作用最佳增效质量配比 (7 : 6) 与东莨菪内酯的

杀螨动态及时间-剂量效应相近,表现出较好的杀螨活性,具有广阔的研发应用前景。对朱砂叶螨雌成螨处理后 32 h 可达到致死高峰期,浓度为 1.0 和 2.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 处理后 LT_{50} 分别为 6.1 和 5.0 h,处理后 48 h 的 LC_{50} 和 LC_{90} 分别为 0.2195 和 1.1617 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

参考文献

- [1] Biswas GC, Islam W, Haque MM, et al. Some biological aspects of carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* Bois. (Acari: Tetranychidae) infesting egg-plant from Rajshahi. *Journal of Biological Sciences*, 2004, **4**: 588-591
- [2] Zhang Y-Q (张永强), Ding W (丁伟), Zhao Z-M (赵志模), et al. Studies on acaricidal bioactivities of the extracts from *Artemisia annua* L. against *Tetranychus cinnabarinus* Bois. (Acari: Tetranychidae). *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2008, **41** (3): 720-726 (in Chinese)
- [3] Zhang Y-Q (张永强), Ding W (丁伟), Tian L (田丽), et al. Acaricidal bioactivity of *Artemisia annua* extracts against *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae). *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2009, **42** (6): 2217-2222 (in Chinese)
- [4] Zhang Y-Q (张永强). Studies on Acaricidal Action Mechanism and Bio-guided Isolation of Bioactive Substance from *Artemisia annua* L. PhD Thesis. Chongqing: Southwest University, 2008 (in Chinese)
- [5] Liang W (梁为), Bai X-N (白雪娜), Cheng J (成军), et al. Isolation and identification of the principal acaricidal components from *Stellera chamaejasme*. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2011, **38** (5): 947-954 (in Chinese)
- [6] Liang W (梁为), Bai X-N (白雪娜), Ma L-Q (马兰青), et al. Preliminary study on scopoletin toxicity to *Tetranychus cinnabarinus* and its acaricidal mechanism. *Guangdong Agricultural Sciences* (广东农业科学), 2011, **38** (8): 68-71 (in Chinese)
- [7] Zhang Y-Q (张永强), Ding W (丁伟), Wang D-Z (王丁祯). The resistance evaluation of *Tetranychus cinnabarinus* against natural acaricidal compound scopoletin. *Agrochemicals* (农药), 2011, **50** (3): 226-228 (in Chinese)
- [8] Yong X-J (雍小菊), Zhang Y-Q (张永强), Ding W (丁伟). Sublethal effects of scopoletin on the experimental population of the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisdunal) (Acari: Tetranychidae). *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2011, **54** (12): 1377-1383 (in Chinese)
- [9] Zhang Y-Q (张永强), Ding W (丁伟), Zhao Z-M (赵志模). Biological activities of curcuminoids against *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acari: Tetranychidae). *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2007, **50** (12): 1304-1308 (in Chinese)
- [10] Yong X-J (雍小菊), Ding W (丁伟), Zhang Y-Q (张永强), et al. Bioactivity and action modes of bisdemethoxycurcumin against *Tetranychus cinnabarinus* Bois. (Acari: Tetranychidae). *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2011, **22** (6): 1592-1598 (in Chinese)
- [11] Zhang Y-Q (张永强). Studies on Insecticidal and Miticidal Activities of Chinese Traditional Medicine Turmeric *Curcuma longa* and Its Action Mechanism. Master Thesis. Chongqing: Southwest Agricultural University, 2005 (in Chinese)
- [12] Busvine JR. Recommended methods for measurement of resistance to pesticides. *FAO Plant Production and Protection Paper*, 1980, **21**: 132
- [13] Nowierski RM, Zeng Z, Jaronski S, et al. Analysis and modeling of time-dose-mortality of *Melanoplus sanguinipes*, *Locusta migratoria migratorioides*, and *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) from *Beauveria*, *Metarhizium*, and *Paecilomyces* isolates from Madagascar. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1996, **67**: 236-252
- [14] Feng M-G (冯明光). Substituting time-dose-mortality model for probit analysis technique. *Entomological Knowledge* (昆虫知识), 1998, **35** (4): 233-237 (in Chinese)
- [15] Tang Q-Y (唐启义). DPS Data Processing System: Experimental Design, Statistical Analysis and Data Mining. Beijing: Science Press, 2010: 371-376 (in Chinese)
- [16] Feng MG, Liu CL, Xu JH, et al. Modeling and biological implication of time-dose-mortality data for the entomophthoralean fungus, *Zoopthora anhuiensis*, on the green peach aphid *Myzus persicae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1998, **72**: 246-251
- [17] Shi WB, Zhang L, Feng MG. Time-concentration-mortality responses of carmine spider mite (Acari: Tetranychidae) females to three hypocrealean fungi as biocontrol agents. *Biological Control*, 2008, **46**: 495-501
- [18] Lü L-H (吕利华), He Y-R (何余容), Wu Y-J (武亚敬), et al. The time-dose-mortality model of a *Paecilomyces fumosoroseus* isolate on the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2007, **50** (6): 567-573 (in Chinese)
- [19] Cai Y, Cheng ZS, Li CB, et al. Biological activity of recombinant *Spodoptera exigua* multicapsid nucleopolyhedrovirus against *Spodoptera exigua* larvae. *Biological Control*, 2010, **55**: 178-185
- [20] Jiang J-X (蒋杰贤), Ji X-Y (季香云), Zeng A-P (曾爱平), et al. Modeling of *Spodoptera litura* nuclear polyhedral virus epidemic at different temperatures. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2006, **17** (2): 275-279 (in Chinese)
- [21] van Beek N, Hughes PR, Wood HA. Effects of incubation temperature on the dose-survival time relationship of *Trichoplusia ni* larvae infected with *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2000, **76**: 185-190
- [22] Xu JH, Feng MG. The time-dose-mortality modeling

- and virulence indices for two entomophthoralean species, *Pandora delphacis* and *P. neoaphidis*, against the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Biological Control*, 2000, **17**: 29–34
- [23] Bao J-S (鲍佳生), Feng M-G (冯明光). Broomcorn millet grain cultures of the obligate aphid pathogen *Zoophthora anhuiensis* (Entomophthorales) and their infectivity to *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2006, **49**(3): 393–398 (in Chinese)
- [24] Dun Y-H (顿玉慧), Feng M-G (冯明光). Time-concentration-mortality modeling for responses of *Myzus persicae* to low sublethal sprays of imidacloprid. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2004, **15**(4): 615–618 (in Chinese)
- [25] Zhang Y (张怡), Sun H-X (孙海霞). Time-concentration-mortality modeling for responses of *Adonia variegata* (Goeze) larvae and *Aphis* sp. to imidacloprid. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica* (西北农业学报), 2006, **15**(6): 236–239 (in Chinese)
- [26] Xu W-Y (许文耀), You W-L (游文莉), Chen Z-Y (陈章艳). The ‘time-dose-mortality’ model of the mixture of emamectin benzoate and hexaflumuron on beet armyworm. *Entomological Journal of East China* (华东昆虫学报), 2004, **13**(2): 84–90 (in Chinese)
- [27] Liang W (梁为), Shi G-L (师光禄), Cheng J (成军), et al. Study on mortality law of three kinds of acaricidal active ingredients extracted from *Stellera chamaejasme* L. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2011, **27**(9): 372–376 (in Chinese)
- [28] Xu L (徐莉), Mao J (毛杰), Tang Q-Y (唐启义), et al. Acute toxicity of ginger essential oil to *Drosophila melanogaster*. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2007, **18**(8): 1827–1831 (in Chinese)
- [29] Preisler HK, Robertson JL. Analysis of time-dose-mortality data. *Journal of Economic Entomology*, 1989, **82**: 1534–1542
- [30] Wang Z-M (王志明), Tan X-S (谭显胜), Zhou W (周玮), et al. Bioassay data analysis based on support vector regression. *Acta Entomologica Sinica* (昆虫学报), 2010, **53**(12): 1436–1441 (in Chinese)

作者简介 杨振国,男,1986年生,硕士研究生.主要从事植物源杀螨剂研究. E-mail: zhenguoyang@qq.com

责任编辑 肖红
