

· 研究论文 ·

农药混剂配比研究的一种实用寻优方法初探

王小艺^{1*}, 王跃龙², 欧晓明²

(1. 中国林业科学研究院 森林生态环境与保护研究所, 北京 100091;
2. 国家南方农药创制中心 湖南基地, 湖南 长沙 410007)

摘 要: 以室内毒力测定技术为基础, 提出了一种在研究农药复配制剂过程中筛选并表征最佳配比的实用方法, 适用于杀虫剂的二元复配配比研究。在室内以稻黑尾叶蝉 *Nephotettix cincticeps* 4 龄若虫为供试昆虫, 对仲丁威和乐果混配进行了最佳配比的筛选和验证, 取得了理想的结果。

关键词: 农药复配; 实验技术; 毒力测定; 最优配方

中图分类号: S481.3 文献标识码: A 文章编号: 1008-7303(2005)01-0040-05

The Primary Probe of a Practical Method for Seeking the Optimum Proportions of Pesticide Mixtures

WANG Xiao-yi^{1*}, WANG Yue-long², OU Xiaoming²

(1. Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. Hunan Branch of National Pesticide R & D South Center, Changsha 410007, China)

Abstract: A practical method for screening and evaluating the optimum proportion of pesticide mixtures was proposed based on the bioassay techniques in laboratory. The method was applicable for research of seeking the optimum proportions of binary mixtures of insecticides. As a case studied, the optimum allocation of insecticide mixtures between dimethoate and fenobucarb was achieved successfully with the 4th instar nymph of *Nephotettix cincticeps* as the tested insect using the method. The results consisted with what anticipated.

Key words: pesticide mixture; experimental technique; bioassay; optimum allocation

农药复配制剂的研究对于延长新农药品种的使用寿命、缓解靶标生物的抗性、扩大防治谱、降低防治成本、提高药效和环境安全性等方面具有重要的意义。因此, 世界各国对农药混剂的研究都极为重视。如 1975~1976 年间, 北美市场上出售的 5 000 余种农药制剂中, 混剂约为 1 000 种; 而 1977~1978 年间, 日本和美国登记的农药品种中混剂的比例更高达 50% 左右^[1]。我国关于农药混剂的研究也很多, 1993 年我国登记有效的农药混剂品种有 167 个^[2], 截止到 1999 年底, 在我国

农业部农药检定所临时登记的混剂品种约为 2 232 个(次), 所占比例为 52.7%^[3]。研制混剂的目的主要是增效、扩谱、兼治。就增效而言, 自 Bliss 提出农药的联合毒力概念和统计分析方法后^[4], 研究者就不断地进行改进, 提出了很多计算公式。由于我国混剂登记时一般认可 Sun & Johnson 提出的共毒系数法^[5], 所以此法最为常用。

共毒系数法的优点是根据测定结果既可知道某个配比是否增效, 还可知道增效的程度如何, 而且一般来说, 此法测定的数据比较可靠。但共毒

收稿日期: 2004-07-19; 修回日期: 2004-10-30.

作者简介: * 王小艺 (1974-), 男, 通讯作者, 湖南人, 博士后, 助理研究员, 主要从事害虫综合防治研究. 联系电话: 010-62888939; E-mail: xywang1974@sohu.com

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

系数法也存在缺陷,由于它要求对两种单剂和所设定的若干个配比同时进行毒力测定,然后根据毒力曲线比较各自的致死中量或致死中浓度大小。首先,工作量和所需的试虫数都相当大,而且一次试验很难同时得到各单剂及其系列配比的毒力方程;其次,在选择两单剂的配比时,没有一定的客观依据,主观性较强,因而很有可能在所选择进行试验的配比中没有一个是最佳增效的。特别是在两单剂对供试生物的毒力差异很悬殊的情况下,更是难以得到最佳的配比。此外,当生物材料异质性大时,即单剂毒力方程的 b 值相差较大时,仅以 LC_{50} 求共毒系数 (CTC),不能反映药剂的田间防治效果,此时以 LC_{90} 计算则更全面^[6]。

作者在参考和综合了 Crafts 等的按比例混配法^[7]、Horsfall 方法^[8,9]、Mansour 等的共毒因子法^[10]以及 Sun & Johnson 的共毒系数法^[5]等多种方法的基础上,提出了一种测定两种药剂最佳复配比例的方法,其步骤如下:

(1)分别测定两种单剂的毒力曲线和有效中量 (ED_{50}) 或有效中浓度 (EC_{50}),如杀虫剂的致死中量 (LD_{50}) 或致死中浓度 (LC_{50})。本文中以下均用 LC_{50} 进行描述。

(2)按需要配制好两单剂的 LC_{50} 溶液,以其体积之比为 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 等不同比例混合,测定各组配比对供试靶标的有效率(如昆虫的死亡率),同时也测定两单剂在 LC_{50} 时的有效率,经方差分析,若某一组合的有效率在统计上显著大于两单剂在 LC_{50} 值时的有效率,则表示该组合为增效作用,反之为拮抗作用,无显著差异表示相加作用。实际上,前两步(第 1 步和第 2 步)即 Horsfall 方法^[9]。

(3)用某一组合的实测有效率除以预期有效率(根据第 1 步所测的毒力曲线计算而得)得到该组合的毒力比,再用该组合的毒力比除以两单剂的平均毒力比得到该组合的校正毒力比。以混剂中某一种药剂(通常是药效高、价格贵、用量少的那一种)的百分含量为自变量 x ,以其相对应的校正毒力比为因变量 y ,进行曲线拟合。一般来说,该关系基本符合二次曲线方程^[11],即 $y = ax^2 + bx + c$ 。根据拟合的函数方程则可求得 y 的最大值,由此可得到最大增效配比中某一种药剂的百分含量,进而算得两药剂的最佳混配比例。

(4)选择增效较强的 2~3 个配比,测定其毒力曲线并计算共毒系数以明确其增效的程度。

1 试验部分

以仲丁威与乐果复配对稻黑尾叶蝉的最佳配比筛选和毒力测定为例加以验证。

1.1 供试昆虫和药剂

稻黑尾叶蝉 *Nephotettix cincticeps* 室内用水稻苗饲养 5 年的敏感品系。饲养条件:温度 $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $65\% \pm 5\%$,光照 $L/D = 12\text{ h}:12\text{ h}$ 。

78% 乐果 (dimehoate) 原药和 98% 仲丁威 (fenobucarb) 结晶,均由湖南化工研究院农药剂型研究所提供。

1.2 试验方法

采用植株浸渍接虫法。将供试药剂配成一定浓度的母液,再按设定的比例以水稀释配制成 5~6 个浓度,设清水为对照。选取 2~3 叶期的稻苗在供试药液中浸渍 10 s 后取出晾干,放入玻璃试管(直径 30 mm、长 200 mm)中,每管 15 株稻苗,设 3 次重复,然后每管接入叶蝉 4 龄若虫 15 头,管口用白纱布扎紧。处理完毕后置于观察室内,24 h 后检查并记录死活虫数,计算死亡率(%),根据机率值分析法求出毒力回归方程、相关系数 (r)、置信水平 (P) 和致死中浓度 (LC_{50})。

1.3 增效作用评价

增效作用评价分为两步。第 1 步,以 Horsfall^[8]法筛选最佳配比。以预先测定的乐果和仲丁威的致死中浓度配制药液,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 进行混合,分别测定每组配比对叶蝉的毒杀作用。实测死亡率明显大于预期死亡率的配比为增效作用,反之为拮抗作用,二者无显著差异为相加作用。根据实测死亡率和预期死亡率计算毒力比 (Toxicity Ratio; TR) 和校正毒力比 (Corrected Toxicity Ratio; CTR),校正毒力比明显大于 1 为增效作用,明显小于 1 为拮抗作用,等于 1 为相加作用。

$$\text{毒力比} = \frac{\text{实际死亡率}}{\text{预期死亡率}}$$

$$\text{校正毒力比} = \frac{\text{毒力比}}{\text{单剂平均毒力比}}$$

第 2 步,选择增效最显著的配比进行混剂的毒力测定,方法同前。所得结果根据 Sun & Johnson^[5]法求出共毒系数及增效倍数,共毒系数大于 120 表示具增效作用,小于 80 表示拮抗作用,介于 80~120 之间表示相加作用。

1.4 数据的统计分析方法

所有数据的统计分析均采用 SAS (Statistical Analysis System, Version 8.0)软件包进行^[12],多重比较用 PROC GLM 命令,回归分析用 PROC REG 命令。

2 结果与分析

2.1 仲丁威和乐果单剂对稻黑尾叶蝉的毒力

仲丁威和乐果两单剂对稻黑尾叶蝉的致死中浓度分别为 13.51和 79.87 mg/L(见表 1)。

2.2 仲丁威和乐果最佳配比的筛选

根据两单剂毒力测定的结果,以各自 LC₂₅剂量为中心点,设计两种药剂各种不同比例的配比,分别测定各配比对稻黑尾叶蝉的毒效,结果见表 2和图 1。

由表 2、图 1和图 2可知,两种药剂的大多数配比(2~9号)均有不同程度的增效作用,尤其以第 3号配比(仲丁威与乐果实际质量分数比为 1:1.4≈2:3)和第 4号配比(仲丁威与乐果实际质量分数比为 1:2.4≈2:5)增效最为明显。

Table 1 Toxicities of fenobucarb and dimethoate to Nephrotettix cincticeps				
Insecticide	Regression equation	Correlation coefficient (r)	Significance level (P)	LC ₅₀ /mg·L ⁻¹
Fenobucarb (F)	y = -2.616 + 6.736x	0.996 6	0.003 4	13.51
Dimethoate (D)	y = -1.032 + 3.171x	0.991 9	0.008 1	79.87

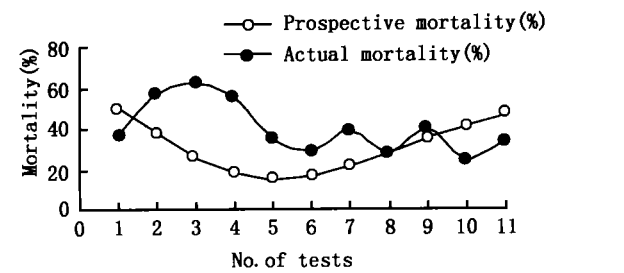


Fig. 1 The prospective and actual mortality of mixtures with different proportions of fenobucarb and dimethoate to *N. cincticeps*

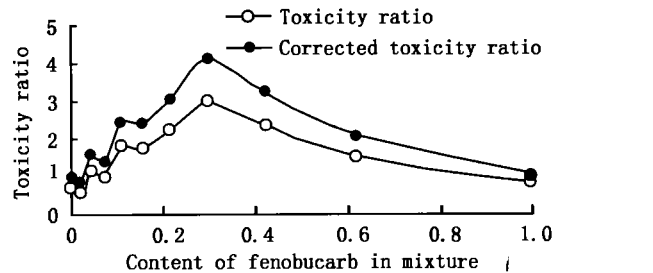


Fig. 2 The toxicity ratio and corrected toxicity ratio of mixtures with different proportions of fenobucarb and dimethoate to *N. cincticeps*

Table 2 Insecticidal actions of mixtures contained different proportions of fenobucarb and dimethoate to <i>N. cincticeps</i>												
No. of tests	Percent of vol of LC ₅₀ solution of pesticides		Actual conc. of pesticides in mixture /mg·L ⁻¹		Fenobucarb /dimethoate (mass)	Prospective mortality caused by		Total prospective mortality of mixture (%)	Actual mortality (%)	Toxicity ratio (TR)	Corrected toxicity ratio (CTR)	Content of fenobucarb in mixture
	Fenobucarb (%)	Dimethoate (%)	Fenobucarb	Dimethoate		Fenobucarb (%)	Dimethoate (%)					
1	100	0	13.50	0	/	50.0	0	50.0	36.67	0.73	1.00	1
2	90	10	12.15	7.5	1:0.6	37.9	0	37.9	57.06	1.51	2.08	0.618 3
3	80	20	10.80	15.0	1:1.4	25.6	1.1	26.7	62.5	2.34	3.23	0.418 6
4	70	30	9.45	22.5	1:2.4	14.8	4.0	18.8	55.89	2.97	4.11	0.295 8
5	60	40	8.10	30.0	1:3.7	6.7	8.9	15.6	34.92	2.24	3.09	0.212 6
6	50	50	6.75	37.5	1:5.6	2.1	14.9	17.0	29.64	1.74	2.41	0.152 5
7	40	60	5.40	45.0	1:8.3	0.2	21.5	21.7	38.68	1.78	2.46	0.107 1
8	30	70	4.05	52.5	1:13.0	0	28.2	28.2	28.06	1.00	1.37	0.071 6
9	20	80	2.70	60.0	1:22.2	0	34.7	34.7	39.83	1.15	1.58	0.043 1
10	10	90	1.35	67.5	1:50.0	0	40.8	40.8	24.53	0.62	0.83	0.019 6
11	0	100	0	75.0	/	0	46.5	46.5	33.25	0.72	1.00	0

2.3 最佳配比的拟合

经 SAS 软件拟合,混剂的校正毒力比 (y)与混剂中仲丁威含量 (x)的关系为:

$y = -24.4080x^2 + 17.3853x + 0.5912$ (F = 29.83, r = 0.9532, P = 0.0008)。对该方程求 y 的最大值,结果为:当 x = 0.3561 时, $y_{max} = 3.6870$ 。即,从理论上讲,当仲丁威在混剂中的含量为 35.61% 时配比最增效,即仲丁威与乐果两种药剂的最佳增效配比应为 35.61% : 64.39% = 1 : 1.808 ≈

5 : 9 ≈ 1 : 2 (质量比,下同)。

因此,在下一步的试验中,选择如下 3 组配比进行混剂的毒力测定,以验证各配方的增效程度。3 组配方分别为:仲丁威 : 乐果 = 1 : 1; 仲丁威 : 乐果 = 2 : 3 和仲丁威 : 乐果 = 1 : 2。

2.4 仲丁威和乐果增效配方混剂的毒力测定

根据选定的 3 组配方,分别测定各混剂对稻黑尾叶蝉的毒力方程,结果见表 3。

Table 3 Toxicities of mixtures with different proportions of fenobucarb and dimethoate to N. cincticeps

Ratio of mixtures	Regression equation	Correlation coefficient (r)	Significance level (P)	LC ₅₀ /mg · L ⁻¹	Co-toxicity coefficient (CTC)	Synergistic time
F:D* (1:1)	y = -0.617 + 4.501x	0.9858	0.1076	17.70	130.57	0.31
F:D (2:3)	y = 0.936 + 3.085x	0.9999	0.0057	20.76	129.77	0.30
F:D (1:2)	y = -1.657 + 4.935x	0.9998	0.0128	22.33	135.62	0.36

* F-fenobucarb, D-dimethoate

三组配方均表现出明显的增效作用,仲丁威和乐果以 1 : 1、2 : 3 和 1 : 2 混配后的共毒系数为 130.57、129.77 和 135.62,分别增效 31%、30%、36%。因此,以仲丁威 : 乐果 (1 : 2) 配方增效最明显,值得在生产上推广应用。

3 讨论

Horsfall 提出的方法最初是用于测定两种杀菌剂之间的联合作用的^[8,9]。Sakai 等曾采用这一实验设计测定杀虫剂 γ-六六六和烟碱对果蝇 *Drosophila melanogaster* 的联合作用,取得了较理想的结果^[13]。此法又称为滴定技术 (titration technique),很适于筛选最佳配比。

从理论上讲,Horsfall 法的确是一种寻找两药剂复配增效比例的好方法,不仅工作量小,而且可以看出两种药剂复配后是否增效,以及增效配比的范围和趋势。但是该法的缺点是:①每个组合必须有足够多的重复组,才能使生测数据可靠。②在混剂中发挥作用贡献较大的药剂往往是 LC₅₀ 值较小的那一种药剂,因此,随着该药剂在混合剂中含量的减少,组合的实际死亡率往往低于理论死亡率。③由于理论死亡率是根据单剂的毒力曲线方程计算而得,因此时常出现在低剂量时实际死亡率往往低于计算值 (理论值)。

本研究以 Horsfall 法寻优后,再以共毒系数法验证优化配方的增效程度,既扩大了筛选配比的范围,又减少了工作量,取得了比较满意的结果。本研究以仲丁威和乐果为例,仅为便于描述筛选农药最佳复配比例的方法和步骤。由于仲丁威为氨基甲酸酯类杀虫剂,乐果为有机磷类杀虫剂,二者杀虫机制相似,因此表现出的联合作用很有限。本方法的不足之处在于,寻找最佳组合时每个配比仅用一个浓度进行实验确实存在一定的风险,要保证结果的可靠性就需要足够多的重复数。此外,由于获得目标配比与验证该配比的生物测定不能同时进行,可能会给实验结果造成一定的影响,这要靠两次测定的外界条件和供试生物尽可能的一致性来减少误差。

致谢:国家南方农药创制中心湖南基地生测部王永江、林雪梅、裴晖、乔广行、喻快等同志参加部分试验工作,谨致谢忱!

参考文献:

[1] ZHANG Rui-ting (张瑞亭). Mixed Use of Pesticides and Pesticide Mixtures (农药的混用与混剂) [M]. Beijing (北京): Chemical Industry Press (化学工业出版社), 1987.
[2] ZHENG Fei-neng (郑斐能). 我国的农药混剂及其有关问题的讨论 [J]. Pesticide Science and Management (农药科学与管理)

- 理), 1995, 16(3): 19-21, 48.
- [3] YANG Xiang-li(杨向黎), LIN Ai-jun(林爱军), WANG Jun(王军). 我国农药混剂的开发与应用现状[J]. J Shandong Agric Univ• Natural Science Edition(山东农业大学学报• 自然科学版), 2001, 32(4): 544-548.
- [4] Bliss C I. The toxicity of poisons applied jointly[J]. Annual Applied Biology, 1939, 26: 585-615.
- [5] Sun Y P, John E R. Analysis of joint action of insecticides against housefly[J]. Journal of Economic Entomology, 1960, 53(5): 887-892.
- [6] WEI Cen(魏岑). Research and Development of Pesticide Mixtures and their Categories(农药混剂研制及混剂品种)[M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 1999.
- [7] Crafts A S, Cleary C W. Toxicity of arsenic borax chlorate and their combinations in three California soils[J]. Hilgardia, 1936, 10: 401-412.
- [8] Horsfall J G. Fungicides and their Action [M]. Waltham: Chronia Botanica, 1945.
- [9] CHEN Fu-liang(陈福良), ZHENG Feineng(郑斐能), WANG Yi(王仪). 农药混配室内毒力测定的一种实用技术[J]. Pesticide Science and Management(农药科学与管理), 1997, 18(4): 30-31, 34.
- [10] Mansour N A, Eldefrawi M E, Topozada A, et al. Toxicological studies on the Egyptian cotton leafworm, *Prodenia litura*. VI Potentiation and antagonism of organophosphorus and carbamate insecticides [J]. Journal of Economic Entomology, 1966, 59(2): 307-311.
- [11] TIAN Shi-yao(田世尧), XU Han-hong(徐汉虹). 二元杀虫剂混配比例与共毒系数的关系[J]. Natural Enemies(昆虫天敌), 1995, 18(Suppl): 20-22.
- [12] CHEN Zi-xing(陈子星), XU Xi-shui(徐夕水). Key to Exercises in SAS Program of Biostatistics(生物统计 SAS 程序题解)[M]. Beijing(北京): Computer Centre of Chinese Academy of Agricultural Sciences(中国农业科学院计算中心), 1997. 38-40, 117-123.
- [13] Sakai S, Sato M, Kojima K. Insect toxicological studies in the joint action of insecticides. II Joint action between contact insecticides[J]. Botyu Kagaku, 1951, 16: 130-140.

(Ed. JIN S H)