

四种生物农药对美国白蛾的复配增效作用研究*

李 强** 陈文帮** 蔡 婷 王张远 陈 敏***

(北京林业大学林学院, 林木有害生物防治北京市重点实验室, 北京 100083)

摘 要 【目的】明确灭幼脲、虫酰肼、苦参碱和印楝素 4 种生物农药对美国白蛾 *Hyphantria cunea* 幼虫的杀虫活性和混配后的联合药效, 为药剂的林间复合应用提供一定参考。【方法】采用人工饲料涂布法对美国白蛾 4 龄幼虫进行了 4 种单剂和混合药剂的室内毒力测定, 采用共毒因子法筛选具有增效作用的最佳配伍, 再用共毒系数法确定混配的最佳比例。【结果】4 种生物农药对美国白蛾 4 龄幼虫的毒力大小顺序为印楝素>灭幼脲>苦参碱>虫酰肼, 施药 96 h 后的致死中浓度(Median lethal concentration, LC_{50})依次为 1.732、23.702、30.160 和 54.296 $mg \cdot L^{-1}$ 。灭幼脲和虫酰肼以致死中浓度混配后表现出显著增效作用, 且体积比为 9 : 1 时增效作用最显著, 其共毒系数为 278.462, 该复配组合处理美国白蛾幼虫的致死中时间(Median lethal time, LT_{50})分别比仅用虫酰肼和灭幼脲时缩短了 0.704 和 1.281 d。其他混配组合均表现为拮抗或相加作用。【结论】4 种生物农药对美国白蛾 4 龄幼虫均具有较高的杀虫活性, 但仅有灭幼脲和虫酰肼按照一定比例混配具有显著增效作用。当灭幼脲和虫酰肼浓度分别为 23.702 和 54.296 $mg \cdot L^{-1}$, 且复配体积比为 9 : 1 时杀虫效果最好。

关键词 美国白蛾; 生物农药; 共毒因子; 共毒系数; 增效作用

Synergistic effect of four biotic pesticides on *Hyphantria cunea*

LI Qiang** CHEN Wen-Bang** CAI Ting WANG Zhang-Yuan CHEN Min***

(Key Laboratory Beijing Control Forest Pest, College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract 【Aim】To clarify the insecticidal activity, and combined efficacy, of four biotic pesticides, chlorbenzuron, tebufenozide, matrine, and azadirachtin, on *Hyphantria cunea* larvae. 【Methods】The toxicity of four pesticides, both when applied separately and as a mixture, on the 4th instar larvae of *H. cunea* was determined using a surface contamination bioassay and an artificial diet. First, the co-toxicity factor method was used to identify the combination with the best synergistic effect, after which the co-toxicity coefficient method was used to identify the optimal mixing ratio. 【Results】The relative toxicity of the four biotic pesticides was azadirachtin > chlorbenzuron > matrine > tebufenozide. The median lethal concentration (LC_{50}) 96 h after application was 1.732, 23.702, 30.160, and 54.296 $mg \cdot L^{-1}$, respectively. A mixture of chlorbenzuron and tebufenozide had significant synergistic effects at lethal concentrations, and this was most significant at a ratio of 9 : 1, with a co-toxicity coefficient of 278.462. The median lethal time (LT_{50}) of this combination was 0.704 and 1.281 d less, respectively, than that for tebufenozide or chlorbenzuron. Other pesticide mixtures displayed antagonistic or additive effects. 【Conclusion】The four biotic pesticides tested have high insecticidal activity against 4th instar *H. cunea* larvae, but only a mixture of chlorbenzuron and tebufenozide had significant synergistic effects. The best results were achieved at concentrations of chlorbenzuron and tebufenozide of 23.702 and 54.296 $mg \cdot L^{-1}$, respectively, and at a volume ratio of 9 : 1.

Key words *Hyphantria cunea*; biotic pesticide; co-toxicity factor; co-toxicity coefficient; synergistic effect

美国白蛾 *Hyphantria cunea* 属鳞翅目 (Zahiri *et al.*, 2013), 是我国重要的林业和进
Lepidoptera 目夜蛾科 Erebidae 灯蛾亚科 Arctiinae 境植物检疫性有害生物 (季荣等, 2003), 目前

*资助项目 Supported project: 北京林业大学大学生创新创业训练计划 (S202210022007)

**共同第一作者 Co-first authors, E-mail: Lim201003@163.com; Lxly513@bjfu.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: minch@bjfu.edu.cn

收稿日期 Received: 2024-03-19; 接受日期 Accepted: 2024-05-21

已扩散至我国 13 个省级行政区的 607 个县级行政区(国家林业和草原局政府网, 2024), 给我国农林生产、生态环境造成极其严重的危害, 据统计仅 2021 年全国美国白蛾灾害损失就高达 212.97 亿元(刘枫等, 2023)。美国白蛾多发生在城市居民区的园林绿化树木和植物上, 营养生态位极广, 几乎可以取食国内已知所有阔叶植物(杨忠岐和张永安, 2007)。而且, 近年发现美国白蛾在我国上海、浙江等地区危害水杉 *Metasequoia glyptostroboides*、落羽杉 *Taxodium distichum* 和池杉 *Taxodium distichum* var. *imbricatum* 等杉科 *Taxodiaceae* 树种, 且取食范围和取食量均较大, 危害也很严重, 使得美国白蛾的防控形势也更为复杂和严峻(黄广育, 2022)。

目前, 我国针对美国白蛾已形成包括物理防治、化学防治和生物防治等综合防控技术(罗立平等, 2018)。但在实际生产中, 由于化学防治具有操作简便、高效、低成本的优势, 仍然为美国白蛾防治中最常用的方法。但长期使用常规化学杀虫剂导致害虫抗药性增强和农药环境残留等问题(赵玉清等, 2020)。生物农药作为一类生物源杀虫剂, 具有低毒、持效期长等优点, 适用于害虫的大面积防治(邱德文, 2013)。在已知的生物农药中, 灭幼脲应用广泛且成本低廉, 是一种苯甲酰基苯基脲类化合物(*Benzoylphenyl ureas*, BPUs), 对昆虫几丁质的生物合成具有抑制作用(Sun *et al.*, 2015), 还可通过异常促进糖酵解代谢, 激活腺苷酸激活蛋白激酶[Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]等过程导致美国白蛾幼虫生长受阻(Zhao *et al.*, 2023), 但在实际防控中存在发挥作用慢, 防治 3 龄以上幼虫效果较差, 长期使用容易产生抗药性等问题(许斐斐等, 2015)。虫酰肼通过促进鳞翅目幼虫蜕皮发挥杀虫作用(司树鼎等, 2008), 在酰基脲类杀虫剂中具有较高活性, 且对非靶标生物安全, 在鳞翅目害虫防治中广泛使用(许斐斐等, 2015)。苦参碱是从植物苦参中提取的一种生物碱, 通过干扰害虫神经系统、降低消化吸收能力、干扰内分泌过程等方式扰乱虫体的生理生化稳态(李志雄等, 2020), 已被证明用于美国白蛾幼虫的林间

施药具有较高防效(曾文豪等, 2020); 由印楝 *Azadirachta indica* 合成的印楝素对脊椎动物无毒, 对哺乳动物无遗传毒性, 具有安全、可生物降解和易于使用等优点(Saxena and Kesari, 2016), 对农林害虫具有重要的拒食作用、较强的生长抑制作用和生殖毒性(Su *et al.*, 2023), 可有效控制包括美国白蛾在内的 400 多种昆虫(Liu and Liu, 2006; Qin *et al.*, 2021)。与灭幼脲相比, 虫酰肼、苦参碱和印楝素对美国白蛾具有较高的毒力, 但生产中单独使用普遍成本较高。由于开发新型生物药剂成本投资高, 研发周期长, 因此将不同作用机制的生物农药进行科学复配是防治害虫的新选择(金永玲等, 2023), 既可延缓抗药性产生, 延长药剂的使用寿命, 同时还可降低防治成本(刘国强等, 2021)。目前利用昆虫病毒、苏云金芽孢杆菌与化学农药混配来提高杀虫效果的研究取得了初步进展(刘云鹏等, 2019; 谢丹洁等, 2023), 但高效低毒的生物农药之间混配对防治美国白蛾的研究未见报道, 不同杀虫机理的生物农药混配是否具有显著的增效作用有待进一步验证。

本研究以美国白蛾 4 龄幼虫为靶标昆虫, 探究灭幼脲、虫酰肼、苦参碱和印楝素 4 种生物农药原药作用于幼虫的毒力效果, 研究生物农药两两混配后对美国白蛾的联合药效, 筛选出具有增效作用的农药配伍, 并通过配制不同配比的混剂对美国白蛾进行毒力测定, 明确最佳配伍的最佳混配比例, 为美国白蛾的高效防治提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

美国白蛾幼虫于 2022 年 8 月中旬采自北京海淀区的受害法桐, 带回实验室后参照曹利军等(2014)的方法用人工饲料饲养, 饲养条件为室温 25 ℃, 相对湿度 60%, 光周期 16L: 8D。选用健康、生理状态一致的 4 龄幼虫供试。

1.2 供试药剂

本试验选用 4 种生物农药对美国白蛾开展

毒力测定, 即 97% 灭幼脲原药 (分析标准品, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 99% 虫酰肼原药 (分析标准品, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 98% 苦参碱原药 (分析标准品, 成都普瑞法药物研发有限公司); 95% 印楝素原药 (分析标准品, 成都普瑞法药物研发有限公司)。用二甲基亚砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO) 将原药 (固体) 溶解至 $10\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为药剂原液, 再用无菌水稀释成相应的浓度用于实验。实验采取人工饲料表面涂布法进行单剂和复配药剂的毒力测定。按照孙守慧等 (2022) 的方法, 配制溶液时要保证有机溶剂 DMSO 的含量不超过 1%, 尽可能防止有机溶剂本身对试虫的毒害作用带来的影响。

1.3 单剂毒力测定

参考孙瑞元 (1963) 的改进寇氏法并结合预实验数据, 设置单剂毒力测定的药剂浓度梯度。将灭幼脲原液用无菌水分别稀释成 100、200、400、800 和 1 600 倍 5 个浓度; 将虫酰肼原液稀释成 25、50、100、200、400、800 和 1 600 倍 7 个浓度; 将苦参碱原液稀释成 50、100、200、400 和 800 倍 5 个浓度; 将印楝素原液稀释成 500、1 000、2 000、4 000、8 000 和 16 000 倍 6 个浓度。对照组使用 DMSO 的稀释液处理, 与相应药剂处理中的 DMSO 浓度保持一致。

参考谢丹洁等 (2023) 的实验方法, 将制备好的人工饲料按每 20 mL 分装于饲料杯 (底径 7.5 cm × 高 4.0 cm, 容量 100 mL) 中, 分别取上述药剂稀释液 200 μL 均匀涂布于人工饲料表面。将饥饿 24 h 后的美国白蛾 4 龄幼虫放入饲料杯饲养观察, 饲养条件同 1.1.1 节。每饲料杯 15 头试虫, 每个处理 3 个重复。每 24 h 观察记录幼虫的死亡情况, 于 96 h 后统计幼虫的死亡总数, 并计算死亡率。幼虫死亡的判定标准为轻触虫体无反应, 使用无菌镊子轻戳腹面胸足部位无反应。若实验最终得出的对照死亡率高于 20%, 则重做实验。

通过统计处理 96 h 后美国白蛾幼虫的死亡数来计算死亡率, 并使用 Abbott 公式计算校正

死亡率。

$$\text{死亡率} = \frac{\text{处理前虫口数} - \text{处理后虫口数}}{\text{处理前虫口数}} \times 100\%,$$

校正死亡率 =

$$\frac{\text{处理虫口减退率} - \text{对照虫口减退率}}{1 - \text{对照虫口减退率}} \times 100\%。$$

1.4 共毒因子测定

采用 Mansour 等 (1966) 的共毒因子法 (Co-toxicity factor, CTF) 初步评价灭幼脲、虫酰肼、苦参碱和印楝素 4 种农药两两复配的混合试剂是否有增效作用。此方法又称为共毒指数法, 是一种粗略比较 2 种农药单剂混用后的联合作用的评价方法 (嵇保中, 2011)。在实际操作中是将 2 种生物农药单剂配置成浓度为 LC_{50} 的试剂, 再各自按照体积比 1:5、1:2、1:1、2:1 和 5:1 混合, 之后分别测定浓度为 LC_{50} 的单剂和混剂处理美国白蛾 4 龄幼虫 96 h 后的校正死亡率。共毒因子的计算公式如下:

$$\text{理论死亡率} = \text{单剂A死亡率} \times \text{单剂A在混剂中占比} + \text{单剂B死亡率} \times \text{单剂B在混剂中占比},$$

$$\text{共毒因子} = \frac{\text{实际死亡率} - \text{理论死亡率}}{\text{理论死亡率}} \times 100。$$

共毒因子 < -20 为拮抗作用, 在 -20-20 之间为相加作用, 共毒因子 > 20 为增效作用。

1.5 共毒系数测定

根据共毒因子的测定结果, 筛选具有增效作用的复配组合, 继续细化复配比例开展实验, 计算复配组合的共毒系数 (Co-toxicity coefficient, CTC) (Sun and Johnson, 1960), 更精确地比较各种混合试剂的杀虫效果, 评价其增效作用。假设灭幼脲和虫酰肼的复配组合存在显著增效作用, 则先将灭幼脲和虫酰肼两单剂配置成浓度为 LC_{50} 的试剂, 再各自按照体积比 1:9、1:4、3:7、2:3、1:1、3:2、7:3、4:1 和 9:1 混合, 得到全部配比的混合试剂, 之后根据预实验结果将混合试剂各稀释 1、2、3 和 4 倍, 进行毒力测定, 方法同 1.3 节。本实验以复配组合中 LC_{50} 较大的生物农药单剂为标准试剂, 标准药剂的毒力指数为 100。共毒系数的计算公式

如下:

单剂的相对毒力指数 = $\frac{\text{标准药剂的}LC_{50}}{\text{供试药剂的}LC_{50}} \times 100$,

混剂的实际毒力指数 = $\frac{\text{标准药剂的}LC_{50}}{\text{混剂的}LC_{50}} \times 100$,

混剂的理论毒力指数 = A剂相对毒力指数 ×
A剂在混剂中占比 + B剂相对毒力指数 ×
B剂在混剂中占比,

共毒系数 = $\frac{\text{混剂的实际毒力指数}}{\text{混剂的理论毒力指数}} \times 100$ 。

共毒系数<80 表示拮抗或减效作用, 80≤共毒系数≤120 表示相加作用, 共毒系数>120 表示增效作用。

1.6 数据分析

实验记录数据采用 Excel 2021 软件进行统计分析, 计算对应的死亡率、校正死亡率、共毒因子和共毒系数等。采用 SPSS Statistics 27 软件

对灭幼脲和虫酰肼对应试剂的浓度对数值和美国白蛾 4 龄幼虫的校正死亡率进行概率回归分析 (Probit analysis), 求出相应的毒力回归方程、致死中浓度 (LC₅₀)、卡方值 (χ²) 及其 95%置信区间等相关参数。本实验统一使用处理 96 h 后的数据。

2 结果与分析

2.1 单剂的毒力

4 种生物农药的分析标准品对美国白蛾 4 龄幼虫的毒力 (96 h) 测定结果如表 1 所示。结果显示, 印楝素对美国白蛾 4 龄幼虫的 LC₅₀ 值为 1.732 mg·L⁻¹, 毒力最强; 其次是灭幼脲, LC₅₀ 值为 23.702 mg·L⁻¹; 酰肼对美国白蛾 4 龄幼虫的 LC₅₀ 值为 54.296 mg·L⁻¹, 毒力相对较低。4 种药剂对美国白蛾 4 龄幼虫的毒力高低顺序为: 印楝素>灭幼脲>苦参碱>虫酰肼。

表 1 4 种生物农药对美国白蛾 4 龄幼虫的毒力 (96 h)
Table 1 Toxicity of four biomimetic pesticides against the 4th instar larvae of *Hyphantria cunea* (96 h)

处理 Treatment	毒力回归方程 Toxicity regression equations	卡方值 χ ² Chi-square value	自由度 df	P 值 P-value	致死中浓度 (mg·L ⁻¹) LC ₅₀ (mg·L ⁻¹)	95%置信区间 (mg·L ⁻¹) 95% Confidence interval (mg·L ⁻¹)
99%虫酰肼 99% Tebufenozide	y= - 3.177+1.832x	6.427	5	0.267	54.296	47.087-62.632
98%苦参碱 98% Matrine	y= - 2.354+1.591x	4.713	3	0.194	30.160	24.594-36.025
97%灭幼脲 97% Chlorbenzuron	y= - 2.816+2.048x	4.251	3	0.236	23.702	20.533-27.300
95%印楝素 95% Azadirachtin	y= - 0.307+1.285x	2.345	4	0.673	1.732	1.363-2.127

2.2 增效作用

2.2.1 4 种药剂复配对美国白蛾幼虫的共毒因子 利用共毒因子法可初步判定 4 种药剂两两复配的杀虫效果。由表 2 可知, 单剂毒力最高的印楝素, 与其他 3 种药剂按一定比例复配后无增效作用, 与虫酰肼各种比例混配后共毒因子处于 - 20 到 20 之间, 表现为相加作用, 与灭幼脲、苦参碱混配后共毒因子均小于 0, 60%的混配组

合小于 - 20, 杀虫效果表现出拮抗作用。灭幼脲与虫酰肼在 1 : 5、2 : 4、4 : 2 和 5 : 1 的 4 种配比对美国白蛾都有显著的增效作用, 其共毒因子达到 22.02-52.77; 灭幼脲和苦参碱、虫酰肼和苦参碱各种比例混配后共毒因子处于 - 20 到 20 之间, 表现为相加作用。因此, 确定 4 种生物农药中灭幼脲和虫酰肼为最佳复配组合, 后续实验以明确最佳增效比例。

表 2 4 种生物农药两两复配后对美国白蛾 4 龄幼虫的毒力 (96 h)
Table 2 Toxicity of four biomimetic pesticides paired in pairs to the 4th instar larvae of *Hyphantria cunea* (96 h)

复配组合 Composite formulation A+B	体积配比 (A : B) Volume ratio (A : B)	查自 LC-P 线的 死亡率 (%) Mortality derived from LC-P line (%)		理论死亡率(%) Theoretical mortality (%)	实际死亡率(%) Actual mortality (%)	共毒因子 Co-toxicity factor	相互作用 Interaction effect
		A	B				
印楝素+灭幼脲 Azadirachtin+ chlorbenzuron	5 : 1	45.80	5.10	50.90	30.00	- 41.06	拮抗 Antagonism
	4 : 2	40.80	15.70	56.50	53.33	- 5.61	相加 Addition
	3 : 3	34.55	26.00	60.55	36.67	- 39.44	拮抗 Antagonism
	2 : 4	26.50	35.00	61.50	50.00	- 18.70	相加 Addition
	1 : 5	15.30	42.70	58.00	50.00	- 13.79	相加 Addition
印楝素+苦参碱 Azadirachtin+ matrine	5 : 1	45.80	9.40	55.20	40.00	- 27.54	拮抗 Antagonism
	4 : 2	40.80	21.05	61.85	50.00	- 19.16	相加 Addition
	3 : 3	34.55	30.70	65.25	30.00	- 54.02	拮抗 Antagonism
	2 : 4	26.50	38.60	65.10	20.00	- 69.28	拮抗 Antagonism
	1 : 5	15.30	45.00	60.30	46.67	- 22.60	拮抗 Antagonism
印楝素+虫酰肼 Azadirachtin+ tebufenozide	5 : 1	45.80	6.10	51.90	63.33	22.02	增效 Synergism
	4 : 2	40.80	16.90	57.70	66.67	15.55	相加 Addition
	3 : 3	34.55	27.00	61.55	70.00	13.73	相加 Addition
	2 : 4	26.50	35.60	62.10	70.00	12.72	相加 Addition
	1 : 5	15.30	42.90	58.20	50.00	- 14.09	相加 Addition
灭幼脲+苦参碱 Chlorbenzuron +matrine	5 : 1	42.70	9.40	52.10	63.33	21.55	增效 Synergism
	4 : 2	35.00	21.05	56.05	60.00	7.05	相加 Addition
	3 : 3	26.00	30.70	56.70	60.00	5.82	相加 Addition
	2 : 4	15.70	38.60	54.30	40.00	- 26.34	拮抗 Antagonism
	1 : 5	5.10	45.00	50.10	40.00	- 20.16	拮抗 Antagonism
灭幼脲+虫酰肼 Chlorbenzuron+ tebufenozide	5 : 1	42.70	6.10	48.80	66.67	36.62	增效 Synergism
	4 : 2	35.00	16.90	51.90	63.33	22.02	增效 Synergism
	3 : 3	26.00	27.00	53.00	60.00	13.21	相加 Addition
	2 : 4	15.70	35.60	51.30	66.67	29.96	增效 Synergism
	1 : 5	5.10	42.90	48.00	73.33	52.77	增效 Synergism
苦参碱+虫酰肼 Matrine+ tebufenozide	5 : 1	45.00	6.10	51.10	56.67	10.90	相加 Addition
	4 : 2	38.60	16.90	55.50	40.00	- 27.93	拮抗 Antagonism
	3 : 3	30.70	27.00	57.70	63.33	9.76	相加 Addition
	2 : 4	21.05	35.60	56.65	66.67	17.69	相加 Addition
	1 : 5	9.40	42.90	52.30	43.33	- 17.15	相加 Addition

A: 混剂中 A 剂所占的体积; B: 混剂中 B 剂所占的体积 (A 剂和 B 剂的配制浓度为其各自的 LC₅₀ 值) 。
A: The volume of reagent A in the mixture; B: The volume of reagent B in the mixture (the formulated concentrations of reagent A and reagent B are their respective LC₅₀ values).

2.2.2 灭幼脲和虫酰肼的最佳增效配比 利用 1 : 1、3 : 2、7 : 3、4 : 1 和 9 : 1 混合, 9 种复配试剂对美国白蛾 4 龄幼虫的毒力测定结果和共毒系数如表 3 所示。结果显示, 施药后 96 h, 9 个配比的 LC₅₀ 值为 9.020-34.428 mg·L⁻¹。灭幼

表 3 灭幼脲和虫酰肼复配不同对比对美国白蛾 4 龄幼虫的共毒系数 (96 h)
Table 3 Co-toxicity coefficient of different proportions of chlorbenzuron and tebufenozide against the 4th instar larvae of *Hyphantria cunea* (96 h)

配比(A : B) Ratio (A : B)	毒力回归方程 Toxicity regression equations	斜率标准 误 Slope standard error	卡方值 χ^2 ($df=3$) Chi-square value	致死中浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) $\text{LC}_{50}(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	95%置信区间 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 95% Confidence interval ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	共毒系数 Co-toxicity coefficient	相互作用 Interaction effect
1 : 9	$y = -1.453 + 0.986x$	0.143	2.692	29.827	22.185-45.493	161.226	增效 Synergism
2 : 8	$y = -1.458 + 0.963x$	0.142	4.116	32.650	23.712-52.677	132.175	增效 Synergism
3 : 7	$y = -1.161 + 0.755x$	0.139	1.179	34.428	22.823-70.326	113.686	相加 Addition
4 : 6	$y = -1.278 + 0.937x$	0.141	1.829	23.092	17.052-35.584	155.067	增效 Synergism
5 : 5	$y = -0.917 + 0.619x$	0.137	0.385	30.264	18.602-79.973	109.037	相加 Addition
6 : 4	$y = -1.263 + 0.983x$	0.142	4.203	19.278	14.460-28.749	158.722	增效 Synergism
7 : 3	$y = -0.724 + 0.576x$	0.135	1.517	18.053	11.366-42.350	157.999	增效 Synergism
8 : 2	$y = -1.548 + 1.545x$	0.151	0.570	10.044	8.411-12.175	265.953	增效 Synergism
9 : 1	$y = -0.860 + 0.900x$	0.138	0.239	9.020	6.754-12.652	278.462	增效 Synergism

A: 混剂中灭幼脲所占的体积; B: 混剂中虫酰肼所占的体积(灭幼脲和虫酰肼的配制浓度为其各自的 LC_{50} 值, 即 54.296 和 $23.702 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。

A: The volume of chlorbenzuron in the mixture; B: The volume of tebufenozide in the mixture (the formulated concentrations of chlorbenzuron and tebufenozide are their respective LC_{50} values, which are 54.296 and $23.702 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively).

脲和虫酰肼配比是 1 : 9、2 : 8、3 : 7 和 5 : 5 时的 LC_{50} 值分别为 29.827、32.650、34.428 和 $30.264 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 药效介于 2 种单剂之间; 灭幼脲和虫酰肼配比是 4 : 6、6 : 4、7 : 3、8 : 2 和 9 : 1 时的 LC_{50} 值分别为 23.092、19.278、18.053、10.044 和 $9.020 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 药效高于 2 种单剂。在所有组合中, 灭幼脲和虫酰肼配比为 3 : 7 和 5 : 5 时对应的共毒系数分别为 113.686 和 109.037, 表现为相加作用, 其余所有配比的共毒系数均大于 120, 表现为增效作用。其中, 当灭幼脲和虫酰肼配比为 8 : 2 和 9 : 1 时, 共毒系数分别为 265.953 和 278.462, 明显大于其他配比, 表明这两种组合增效作用最显著。

2.2.3 灭幼脲和虫酰肼最佳增效配比药剂的半数致死时间 (LT_{50}) 通过共毒系数测定结果可知, 灭幼脲和虫酰肼的最佳增效比例为 1 : 9, 该复配试剂处理美国白蛾 4 龄幼虫的半数致死时间 LT_{50} 为 2.981 d (表 4), 比虫酰肼单剂处理缩短 0.704 d, 比灭幼脲单剂处理缩短 1.281 d。通过 3 种处理的累计死亡率曲线 (图 1) 也可以看出, 复配试剂处理的美国白蛾幼虫死亡率一直

高于单一试剂。

3 讨论

生物农药作为一种源于自然界生物活体的物质或生物代谢产物, 普遍对人畜更安全、对环境更友好, 是农林害虫防治领域的重要研究对象, 而生物农药联合复配是提高防效的重要途径 (徐重新等, 2023)。苏栩等 (2020) 指出苦参碱和阿维菌素复配防治麦二叉蚜 *Schizaphis graminum* 具有增效作用, 当阿维菌素与苦参碱以有效成分比 1 : 360 复配时, 共毒系数为 222.4。胡贵磊等 (2021) 指出苦参碱和除虫菊素复配防治麦二叉蚜具有增效作用, 当苦参碱与除虫菊素有效成分比为 26 : 1 时, 共毒系数为 209.6, 并且复配药剂在田间使用时效果较好且持效强。徐明等 (2015a, 2015b, 2016) 研究了灭幼脲和苏云金芽孢杆菌制剂复配的作用效果和相关机制, 通过飞防试验证明 Bt、灭幼脲和 Bt+灭幼脲混剂处理美国白蛾幼虫 4 d 的致死率分别为 90.91%、94.73%和 100.00%, 验证了混剂的增效作用。

表 4 灭幼脲、虫酰肼和灭幼脲+虫酰肼（9：1）处理下美国白蛾 4 龄幼虫的半数死亡时间
Table 4 LT_{50} of the 4th instar larvae of *Hyphantria cunea* treated with chlorbenzuron, tebufenozide and chlorbenzuron+tebufenozide (9 : 1)

处理 Treatment	毒力回归方程 Toxicity regression equations	斜率 标准误 Slope standard error	卡方值 χ^2 Chi-square value	自由度 df	P 值 P-value	半数死亡 时间 (d) LT_{50} (d)	95%置信区间 (d) 95% Confidence interval (d)
灭幼脲 (LC_{50}) Chlorbenzuron (LC_{50})	$y = -1.854 + 0.435x$	0.030	5.426	5	0.366	4.262	4.019-4.511
虫酰肼 (LC_{50}) Tebufenozide (LC_{50})	$y = -1.922 + 0.522x$	0.034	4.459	5	0.485	3.685	3.468-3.898
灭幼脲 (LC_{50}) : 虫酰肼 (LC_{50}) (9 : 1) Chlorbenzuron (LC_{50}) : tebufenozide (LC_{50}) (9 : 1)	$y = -1.767 + 0.593x$	0.043	6.317	4	0.177	2.981	2.773-3.183

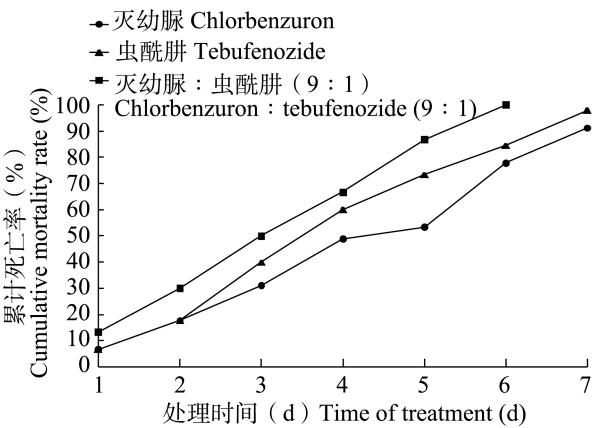


图 1 灭幼脲、虫酰肼和灭幼脲+虫酰肼（9：1）处理下美国白蛾 4 龄幼虫的累计死亡率

Fig. 1 Cumulative mortality of the 4th instar larvae of *Hyphantria cunea* treated with chlorbenzuron, tebufenozide and chlorbenzuron+tebufenozide (9 : 1)

谢丹洁等（2023）研究了美国白蛾核型多角体病毒（HycuNPV）和高效氯氰菊酯、甲维盐、灭幼脲、苦参碱混配的作用效果，明确指出 HycuNPV 和甲维盐体积比在 1：9 时混配使用增效作用最显著，增效倍数达 29.06。许斐斐等（2015）通过室内毒力测定和飞防试验研究了几种生物农药复配的增效作用，指出高效氯氰菊酯触杀作用强，但选择性较差，和持效期长的灭幼脲混配使用对于暴发性虫害具有显著防治效果，甲氧虫酰肼和虫酰肼靶标选择性较强，对不同龄期的幼虫具有快速击杀能力，和虫螨腈组合使用对幼虫击

倒性较好。本研究聚焦灭幼脲、虫酰肼、苦参碱和印楝素 4 种生物农药复配对美国白蛾幼虫的增效作用，首先测定了 4 种生物农药单剂对美国白蛾 4 龄幼虫的室内毒力，再通过共毒因子法明确了灭幼脲和虫酰肼按照特定浓度混配时具有显著增效作用，最后采用共毒系数法，细化 2 种农药的体积配比，筛选出了灭幼脲和虫酰肼的最佳复配比例为 9：1，该混配药剂对美国白蛾 4 龄幼虫处理 96 h 的共毒系数为 278.462，进一步验证该混合试剂对美国白蛾幼虫的杀虫效果，得到的半数死亡时间为 2.981 d，同等条件下灭幼脲单剂处理的半数死亡时间为 4.262 d，虫酰肼单剂处理的半数死亡时间为 3.685 d，分别比混剂长了 1.281 和 0.704 d，验证了上述混配药剂具有显著的联合药效。研究还发现，当灭幼脲和虫酰肼比例接近时，混配药剂的共毒因子和共毒系数均表现为相加作用，逐渐增大比差有明显的增效趋势。

在本研究中，灭幼脲和虫酰肼复配使用后的虫酰肼浓度为 $5.4296 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，成本降低为复配前的 1/10，25%灭幼脲在进行美国白蛾的林间防治时推荐的稀释倍数为 1 500-2 500 倍，本研究使用灭幼脲原药复配后的稀释倍数约为 47 000 倍，使用剂量降低到原来的 1/5-1/8，不仅解决了虫酰肼药剂成本高和灭幼脲杀虫速度慢的不足，而且相比两药剂单独使用大大减少了用量，有助

于延缓抗药性的产生。本研究只在室内恒温条件下对 2 种农药和混剂进行了毒力测定, 但野外实际的防治工作受天气、环境等多方面因素影响, 实际应用结果可能存在差异, 还需进一步开展田间试验。此外, 灭幼脲和虫酰肼混配使用的增效机制尚不明确。目前已知两者主要作用于美国白蛾幼虫的表皮合成系统, 阻碍正常生长发育, 从而加速昆虫死亡。已有研究证实, 灭幼脲通过控制几丁质的合成抑制美国白蛾表皮生长和生理代谢, 通过异常促进糖酵解代谢等过程干扰美国白蛾幼虫的生长 (Zhao *et al.*, 2023), 虫酰肼、甲氧虫酰肼等双酰基肼类杀虫剂通过改变昆虫表皮物质的合成导致昆虫死亡 (Suarez-Lopez *et al.*, 2023), 今后可继续通过基因组学和分子生物学手段, 深入研究灭幼脲和虫酰肼复配药剂的作用机理, 为生物农药的高效利用提供理论指导。

参考文献 (References)

- Cao LJ, Yang F, Tang SY, Chen M, 2014. Development of an artificial diet for three lepidopteran insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(5): 1376–1386. [曹利军, 杨帆, 唐思莹, 陈敏, 2014. 适合三种鳞翅目昆虫的一种人工饲料配方. 应用昆虫学报, 51(5): 1376–1386.]
- Government Network of the National Forestry and Grassland Administration, 2024. Announcement No. 6 of the National Forestry and Grassland Administration in 2024: *Hyphantria cunea* epidemic area in 2024 [EB/OL]. (2024-02-26) <https://www.forestry.gov.cn/lyj/1/gsgg/20240227/547471.html>. [国家林业和草原局政府网, 2024. 国家林业和草原局公告 2024 年第 6 号: 2024 年美国白蛾疫区[EB/OL]. (2024-02-26) <https://www.forestry.gov.cn/lyj/1/gsgg/20240227/547471.html>.]
- Hu GL, Su X, Wang G, Song C, Hu SF, Gao YH, Wang YZ, Guo TX, Dai QJ, Zhang BZ, 2021. Co-bioactivity of pyrethrins with matrine insecticides against *Schizaphis graminum* on wheat and field efficacy. *Agrochemicals*, 60(11): 836–839. [胡贵磊, 苏栩, 汪耿, 宋诚, 胡帅飞, 高一浩, 王艺卓, 郭天欣, 代庆洁, 张百重, 2021. 除虫菊素和苦参碱复配对麦二叉蚜的联合生物活性及田间药效. 农药, 60(11): 836–839.]
- Huang GY, 2022. Occurrence regularity of *Hyphantria cunea* in Jinshan District of Shanghai. *Forest Pest and Disease*, 41(2): 27–31. [黄广育, 2022. 上海金山区美国白蛾发生规律初探. 中国森林病虫, 41(2): 27–31.]
- Ji BZ, 2011. *Forest Chemical Conservation*. Beijing: China Forestry Publishing House Press. 343. [嵇保中, 2011. 林木化学保护学. 北京: 中国林业出版社. 343.]
- Ji R, Xie BY, Li XH, Gao ZX, Li DM, 2003. Research progress on the invasive species, *Hyphantria cunea*. *Entomological Knowledge*, 40(1): 13–18. [季荣, 谢宝瑜, 李欣海, 高增祥, 李典漠, 2003. 外来入侵种——美国白蛾的研究进展. 昆虫知识, 40(1): 13–18.]
- Jin YL, Liu YY, Wang XY, Li JQ, Chen Y, Zhang ZM, Xiang LX, 2023. Joint toxicity of flupyradifurone with eight insecticides against *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). *Plant Protection*, 49(2): 383–388. [金永玲, 刘媛媛, 王星宇, 李加奇, 陈云, 张祖铭, 相龙鑫, 2023. 氟吡呋喃酮与 8 种杀虫剂复配对温室白粉虱的联合毒力. 植物保护, 49(2): 383–388.]
- Li ZX, Wei YD, Cao W, Ma X, Ma ZH, Su Y, Han X, Yao YS, 2020. Effects of matrine and veratrine sublethal doses on growth, development and reproduction of cotton aphids. *Agrochemicals*, 59(12): 880–884. [李志雄, 魏引弟, 曹巍, 马雪, 麻正辉, 苏悦, 韩旭, 姚永生, 2020. 苦参碱和藜芦碱亚致死剂量对棉花蚜虫生长发育及繁殖的影响. 农药, 59(12): 880–884.]
- Liu F, Su HJ, Liu T, Ding N, Fang GF, 2023. Evaluation of *Hyphantria cunea* (Drury) disaster loss in 2021 in China. *Forest Pest and Disease*, 42(3): 15–21. [刘枫, 苏宏钧, 刘通, 丁宁, 方国飞, 2023. 2021 年我国美国白蛾灾害损失评估. 中国森林病虫, 42(3): 15–21.]
- Liu GQ, Bai B, Bi YH, Luan JB, Yu ZG, 2021. Joint toxicity of capsaicin with three insecticides against whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). *Plant Protection*, 47(4): 305–309. [刘国强, 白冰, 毕于慧, 栾军波, 于志国, 2021. 辣椒碱与 3 种药剂对温室白粉虱的联合毒力. 植物保护, 47(4): 305–309.]
- Liu TX, Liu SS, 2006. Experience-altered oviposition responses to a neem-based product, Neemix, by the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pest Management Science*, 62(1): 38–45.
- Liu YP, Zhang XT, Xie CX, Zhu H, 2019. Synergistic test of Bt strain with high virulence of *Hyphantria cunea*. *Journal of Anhui Agricultural University*, 46(5): 870–875. [刘云鹏, 张啸天, 解春霞, 朱虹, 2019. 美国白蛾高毒 Bt 菌株复配增效试验. 安徽农业大学学报, 46(5): 870–875.]
- Luo LP, Wang XY, Yang ZQ, Cao LM, 2018. Research progress in the management of fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Environmental Entomology*, 40(4): 721–735. [罗立平, 王小艺, 杨忠岐, 曹亮明, 2018. 美国白蛾防控技术研究进展. 环境昆虫学报, 40(4): 721–735.]
- Mansour NA, Eldefrawi ME, Toppozada A, Zeid M, 1966. Toxicological studies on the Egyptian cotton leaf worm, *Prodenia litura*. VI. potentiation and antagonism of organophosphorus and carbamate insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 59(2): 307–311.
- Qin DQ, Zhou Y, Zhang PW, Liu BJ, Zheng Q, Zhang ZX, 2021. Azadirachtin downregulates the expression of the *CREB* gene and protein in the brain and directly or indirectly affects the cognitive behavior of the *Spodoptera litura* fourth-instar larvae. *Pest Management Science*, 77(4): 1873–1885.
- Qiu DW, 2013. Research progress and prospect of bio-pesticides. *Plant Protection*, 39(5): 81–89. [邱德文, 2013. 生物农药研究进展与未来展望. 植物保护, 39(5): 81–89.]

- Saxena A, Kesari VP, 2016. Lack of genotoxic potential of pesticides, spinosad, imidacloprid and neem oil in mice (*Mus musculus*). *Journal of Environmental Biology*, 37(2): 291–295.
- Si SD, Wang KY, Zhang WC, Wang M, Shi XG, Luan BH, 2008. Toxicity and action mechanism of tebufenozide and its derivative 0593 to silkworm (*Bombyx mori*). *Acta Entomologica Sinica*, 51(11): 1157–1163. [司树鼎, 王开运, 张文成, 王冕, 石绪根, 栾炳辉, 2008. 虫酰肼及其衍生物 0593 对家蚕的毒性及作用机理. 昆虫学报, 51(11): 1157–1163.]
- Su X, Wang G, Zhen CA, Song C, Xu YB, Jia JP, Zhang MK, Zhang YY, Zheng FL, Jiang YT, Chen XL, Zhang BZ, 2020. Co-toxicity of abamectin mixed with four biological insecticides against *Schizaphis graminum* (Rondani). *Journal of Triticeae Crops*, 40(5): 630–637. [苏栩, 汪耿, 甄丛爱, 宋诚, 胥燕博, 贾冀鹏, 张孟可, 张瑶瑶, 郑福林, 蒋宇泰, 陈锡岭, 张百重, 2020. 阿维菌素与 4 种生物杀虫剂复配对象二叉蚜的联合毒力. 麦类作物学报, 40(5): 630–637.]
- Su XY, Liang ZP, Xue Q, Liu J, Hao XM, Wang CX, 2023. A comprehensive review of azadirachtin: Physicochemical properties, bioactivities, production, and biosynthesis. *Acupuncture and Herbal Medicine*, 3(4): 256–270.
- Suarez-Lopez YA, Hatem AE, Aldebis HK, Vargas-Osuna E, 2023. Effects of tebufenozide on eggs, larvae and adults of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Insects*, 14(6): 521.
- Sun RF, Liu CJ, Zhang H, Wang QM, 2015. Benzoylurea chitin synthesis inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(31): 6847–6865.
- Sun RY, 1963. A practical combined method for computing the median lethal dose (LD_{50}). *Acta Pharmaceutica Sinica*, 10(2): 65–74. [孙瑞元, 1963. 简捷实用的半数致死量综合计算法. 药学报, 10(2): 65–74.]
- Sun SH, Gao DX, Yan XY, Zhu J, Li S, Zhang XY, 2022. Study on the co-toxicity with two insecticides against *Hyphantria cunea* (Drury). *Journal of Shenyang Agricultural University*, 53(6): 717–722. [孙守慧, 高道雄, 闫秀英, 朱佳, 李硕, 张馨阳, 2022. 2 种杀虫剂对美国白蛾的联合毒力作用研究. 沈阳农业大学学报, 53(6): 717–722.]
- Sun YP, Johnson ER, 1960. Analysis of joint action of insecticides against house flies. *Journal of Economic Entomology*, 53(5): 887–892.
- Xie DJ, Liu YP, Wang HP, Liu CL, Zhao TH, Qu LJ, 2023. The synergistic effect of HycuNPV on four common chemical insecticides. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 60(1): 49–57. [谢丹洁, 刘云朋, 汪海鹏, 刘程林, 赵同海, 曲良建, 2023. 美国白蛾核型多角体病毒与四种常用化学杀虫剂的复配增效作用研究. 应用昆虫学报, 60(1): 49–57.]
- Xu CX, Zhang JZ, Hu XD, Lin MM, Chen W, Zhang X, Liu Y, Liu XJ, 2023. Research progress of pesticide combination in crop diseases and insect pest control. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 51(4): 8–15. [徐重新, 张江兆, 胡晓丹, 林曼曼, 陈蔚, 张霄, 刘媛, 刘贤金, 2023. 农药联合复配在农作物病虫害防治上的研究进展. 江苏农业科学, 51(4): 8–15.]
- Xu FF, Tang XF, Lv XK, Han LQ, Sun Z, Zhu QQ, 2015. Contrast test and effect evaluation for aerial spraying pesticides against *Hyphantria cunea*. *Forest Pest and Disease*, 34(5): 42–44, 46. [许斐斐, 汤先锋, 吕晓坤, 韩立强, 孙哲, 朱芹芹, 2015. 美国白蛾飞防药剂对比试验及效果评价. 中国森林病虫, 34(5): 42–44, 46.]
- Xu M, Xu FY, Wu XQ, 2015a. Effects of the activity of midgut chitinase, cuticle AChE on 4th instar larvae of *Hyphantria cunea* by the treatment of different concentration of the mixture of Bt and chlorbenzuron. *Journal of Southwest Forestry University*, 35(5): 64–70. [徐明, 徐福元, 吴小芹, 2015a. 苏云金杆菌和灭幼脲混剂对美国白蛾幼虫 2 种酶活性的影响. 西南林业大学学报, 35(5): 64–70.]
- Xu M, Xu FY, Wu XQ, 2015b. Effects of the mixture of Bt and chlorbenzuron on the activity of midgut proteinase, haemolymph proteins on 4th instar larvae of *Hyphantria cunea*. *Scientia Silvae Sinicae*, 51(11): 137–144. [徐明, 徐福元, 吴小芹, 2015b. Bt+灭幼脲混剂对美国白蛾幼虫中肠蛋白酶、血淋巴蛋白的影响. 林业科学, 51(11): 137–144.]
- Xu M, Xu FY, Wu XQ, 2016. Destruction of the peritrophic membrane of the larvae of *Hyphantria cunea* Drury by the mixture of Bt and chlorbenzuron. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 40(3): 52–56. [徐明, 徐福元, 吴小芹, 2016. 苏云金杆菌与灭幼脲混剂对美国白蛾幼虫围食膜的破坏研究. 南京林业大学学报(自然科学版), 40(3): 52–56.]
- Yang ZQ, Zhang YA, 2007. Researches on techniques for biocontrol of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, a severe invasive insect pest to China. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(4): 465–471, 622. [杨忠岐, 张永安, 2007. 重大外来入侵害虫: 美国白蛾生物防治技术研究. 昆虫知识, 44(4): 465–471, 622.]
- Zahiri R, Lafontaine JD, Holloway JD, Kitching IJ, Schmidt BC, Kaila L, Wahlberg N, 2013. Major lineages of Nolidae (Lepidoptera, Noctuoidea) elucidated by molecular phylogenetics. *Cladistics*, 29(4): 337–359.
- Zeng WH, Lü XJ, Zhao YQ, Min H, Huang F, Zhang XH, Min SF, 2020. Preliminary report on control the larvae of *Hyphantria cunea* with three kinds of bionic pesticide. *Hubei Forestry Science and Technology*, 49(5): 39–42. [曾文豪, 吕晓君, 赵玉清, 闵浩, 黄芳, 张新华, 闵水发, 2020. 3 种仿生药剂防治美国白蛾幼虫试验初报. 湖北林业科技, 49(5): 39–42.]
- Zhao YC, Zou CS, Zhang L, Li CD, Li XP, Song LW, 2023. Chlorbenzuron caused growth arrest through interference of glycolysis and energy metabolism in *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Erebididae) larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 193: 105466.
- Zhao YQ, Zeng WH, Min H, Chen S, Zhu AH, 2020. Field test and screening of four biomimetic pesticides against *Hyphantria cunea*. *Journal of Green Science and Technology*, 2020(23): 114–116, 122. [赵玉清, 曾文豪, 闵浩, 陈肆, 朱艾红, 2020. 四种仿生农药对美国白蛾林间药效试验及筛选. 绿色科技, 2020(23): 114–116, 122.]