

顾中言, 陈志谊, 刘邰洲. 分析增效系数和共毒系数的异同及探讨杀菌剂混用联合作用的评判[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(6): 1262-1267.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.06.011

分析增效系数和共毒系数的异同及探讨杀菌剂混用联合作用的评判

顾中言, 陈志谊, 刘邰洲

(江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为提出混用杀菌剂增效作用统一的评判标准, 通过浸渍 3~4 叶期的稻苗和接种稻瘟病菌孢子悬浮液测定三环唑和硫磺按 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 和 1:3 混用对稻瘟病菌的联合作用效果。用增效系数评价测定结果, 发现 3:1, 2:1, 1:1 和 1:2 混用为相加作用, 1:3 混用为拮抗作用; 用共毒系数评价, 则显示 3:1, 2:1 和 1:1 混配为增效作用, 1:2 和 1:3 混用为拮抗作用。增效系数和共毒系数都是以 EC_{50} 和单剂在混剂中的比例进行计算, 增效系数乘以 100 后, 在数值上与共毒系数完全相等, 是不同的评判标准造成了不同的评判结果。将混剂的 EC_{50} 分解为三环唑和硫磺的单剂浓度, 代入单剂回归方程计算的期望抑制率均大于 50%, 说明三环唑和硫磺混用后对稻瘟病菌没有增效作用, 用 Mansour 的共毒因子进行计算, 则 3:1, 2:1 和 1:1 混用为相加作用, 1:2 和 1:3 混用为拮抗作用。在增效系数和共毒系数计算中, EC_{50} 只对应 50% 的病菌抑制率, 没考虑对病菌的抑制率范围, 而共毒因子则涉及了抑制率范围, 研究结果证实增效系数或共毒系数再辅以共毒因子, 能更准确地判断混剂的联合作用方式。

关键词: 杀菌剂混用; 增效系数; 共毒系数; 共毒因子

中图分类号: S482.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2016)06-1262-06

Analysis the similarities and differences between synergic ratio and co-toxicity coefficient and study the standard evaluating the combined action of fungicide mixture

GU Zhong-yan, CHEN Zhi-yi, LIU You-zhou

(Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: To put forward a unified evaluation standard for synergism of fungicides, the combined action of the binary combinations of tricyclazole and sulfur by 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 and 1:3 was tested by dipping 3-4 leaf stage of rice seedlings and inoculating with rice blast fungus spore suspension. The results evaluated with synergic ratio showed the combinations mixed by 3:1, 2:1, 1:1 and 1:2 were additive action and by 1:3 was antagonism, and the results evaluated with co-toxicity coefficient indicated the combinations mixed by 3:1, 2:1 and 1:1 were synergism and by 1:2 and 1:3 were antagonism. Synergic ratio and co-toxicity coefficient were calculated with EC_{50} and the proportion of single agent in the combination, synergic ratio multiplied by 100 equal co-toxicity coefficients, the different results were caused only by different judging criterion. The EC_{50} of the combinations of tricyclazole and sulfur was broken down concentration of single fungicides, the expectation inhibition rate of the combinations were calculated according to the regression equation of the

fungicide, and they were more than 50%, which meanted the combinations of Magnaporthe grisea were no synergism. The combinations mixed by 3:1, 2:1 and 1:1 were additive action and by 1:2 and 1:3 were antagonism according to the Mansour's co-toxicity factor. In synergic ratio and co-toxicity co-

收稿日期: 2016-03-07

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(15)1004]

作者简介: 顾中言(1957-), 男, 江苏无锡人, 本科, 研究员, 主要从事农药应用研究。(E-mail) guzy@jaas.ac.cn

efficients, EC_{50} only responded 50% inhibition rate on rice blast fungus and did not take into account the inhibition rate range, but co-toxicity factor did it. The results indicated that the Synergism of fungicide mixture was judged more correctly through using synergic ratio and co-toxicity factor or co-toxicity coefficient and co-toxicity factor.

Key words: fungicide mixture; synergic ratio; co-toxicity coefficient; co-toxicity factor

农药的混合使用是中国农药应用中非常普遍的现象。农药混用后有增效作用、相加作用和拮抗作用3种结果,有增效作用的混用可以减少农药用量。

中国普遍使用 Wadley 的增效系数或孙云沛的共毒系数来判断杀菌剂混用的联合作用方式^[1],但对2种判断方法的异同以及对判断结果的正确性评价,至今未见有文献报道。顾中言等^[2-3]曾经报导,在用共毒系数评价杀虫剂混用的联合作用时,因使用表示害虫对药剂集中趋势的致死中量(致死中浓度)而忽略了表示害虫对药剂反应的分散程度的95%置信区间,与用 Mansour 的共毒因子计算的增效结果相比,约30%的增效组合没有增效作用。因为同一龄期害虫的个体大小及抗耐药程度不一样,同一剂量(浓度)在不同试验中害虫的死亡率不同,导致致死中量(致死中浓度)的不同,但95%置信区间依然重叠。用单剂置信区间的上限和混剂置信区间的下限及单剂置信区间的下限和混剂置信区间的上限计算出共毒系数区间,当共毒系数区间在100以上时,可确认杀虫剂混配的增效作用,而当这个范围在100左右、跨越在增效与拮抗之间时,仅用1次测定的致死中量(致死中浓度)计算的共毒系数来判断混剂增效与否就会出现偏差,而用共毒因子可以修正这种偏差^[3]。

本研究通过比较增效系数和共毒系数在评价杀菌剂混用联合作用中的异同及不足,结合共毒因子法,提出杀菌剂混用联合作用的评判方法。

1 材料与方法

1.1 供试材料

75%三环唑可湿性粉剂和硫磺原药由江苏粮满仓农化有限公司提供。感稻瘟病水稻品种:苏玉糯。水稻稻瘟病菌由江苏省农业科学院采集保存。

1.2 试验方法

1.2.1 药剂配制 用水将三环唑稀释成10 000 mg/L母液,用无水乙醇溶解硫磺,然后配制10 000 mg/L母液,再用单剂母液配制三环唑和硫磺3:1、2:1、1:1、1:2和1:3的混剂母液,由

母液配制用于试验的系列药液。

1.2.2 水稻秧苗培育 试验用直径(内径)7.5 cm、高7.0 cm的塑料杯(杯底钻小孔),装土至4/5处备用,将水稻浸种、催芽后播种于塑料杯内,每杯10~15粒均匀点播,覆土1.0 cm,并将塑料杯置于盛水的塑料盘内,以底部渗灌的方式保持土壤的完全湿润,最后将播有水稻的塑料杯放入玻璃温室内以免麻雀和害虫的侵扰,温度(25±3)℃。水稻苗长至3~4叶期时备用。

1.2.3 室内毒性测定 剪下水稻苗,在不同浓度的药剂中浸渍2 h,取出恒温27℃保湿24 h;喷雾接种稻瘟病菌孢子悬浮液,喷雾量以叶片湿润为度,以清水为对照,3次重复。将处理后的稻苗置于温度(25±3)℃、相对湿度为90%的环境下,6 d后调查水稻的发病情况,计算病情指数和药剂对病害的抑制率。

稻瘟病病情发生严重度的分级标准:

0级:无病斑;

1级:病斑面积占整个叶面积的5%以下;

3级:病斑面积占整个叶面积的6%~10%;

5级:病斑面积占整个叶面积的11%~25%;

7级:病斑面积占整个叶面积的26%~50%;

9级:病斑面积占整个叶面积的51%以上。

病情指数 = $[\sum (\text{各级病叶数} \times \text{对应等级数值}) \times 100\%] / (\text{调查总叶数} \times 9)$

抑制率(%) = $[(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) \times 100\%] / \text{对照病情指数}$

1.2.4 混剂联合作用的评判方法

1.2.4.1 共毒系数法 以杀菌剂活性测定中的 EC_{50} 和单剂在混剂中的比例计算共毒系数。

混剂实测毒性指数 = 标准杀虫剂的 LC_{50} (标准杀菌剂的 EC_{50})/供试杀虫剂的 LC_{50} (供试杀菌剂的 EC_{50}) $\times 100$

混剂的理论毒性指数 = A药剂的毒性指数 \times 混剂中A药剂的百分含量 + B药剂的毒性指数 \times 混剂中B药剂的百分含量。

共毒系数 = 混剂实测毒性指数/混剂理论毒性

指数 $\times 100$

共毒系数明显大于 100 为增效作用,显著小于 100 为拮抗作用,接近 100 为相加作用。

1.2.4.2 增效系数法 以杀菌剂活性测定中的 EC_{50} 和单剂在混剂中的比例计算增效系数。实际观察到的混剂 EC_{50} 为实际药效,用 E_{ob} 表示,由以下公式计算的 E_{th} 值为混剂的理论药效。

$$\text{混剂 } EC_{50} \text{ 的 } E_{th} = \frac{a+b+c+\cdots}{\frac{a}{EC_{50}A} + \frac{b}{EC_{50}B} + \frac{c}{EC_{50}C} + \cdots}$$

公式中 A、B、C 表示各杀菌剂单剂, a 、 b 、 c 为这些单剂成分在混剂中所占的比例。

增效系数 (SR) = E_{th}/E_{ob}

$SR > 1.5$ 为增效作用; $0.5 \leq SR \leq 1.5$ 为相加作用; $SR < 0.5$ 为拮抗作用。

1.2.4.3 共毒因子法^[4]。将混剂的实测 EC_{50} 按比例分解为单剂浓度,将 2 个单剂浓度分别代入相应单剂毒力回归方程,计算 2 个单剂浓度单独使用时的死亡率,相加后形成混剂的期望死亡率。

表 1 三环唑-硫磺混用对水稻稻瘟病菌的联合作用

Table 1 Combined action of tricyclazole-sulfur on rice blast

供试药剂	配比	毒力回归方程 $Y=a+bx$	EC_{50} (mg/L)	95% 置信限	共毒系数	增效系数	共毒因子
三环唑		$Y=5.1449+0.8258x$	0.6677	0.3676~1.2127			
硫磺		$Y=3.8344+0.7675x$	33.0212	18.2050~59.8956			
三环唑-硫磺	3:1	$Y=5.0723+0.5852x$	0.7515	0.4196~1.3460	117.67	1.1767	-3.29
三环唑-硫磺	2:1	$Y=5.0421+0.4838x$	0.8183	0.5205~1.2867	121.17	1.2117	-4.94
三环唑-硫磺	1:1	$Y=5.0118+0.6374x$	0.9588	0.8090~1.1352	136.52	1.3652	-6.01
三环唑-硫磺	1:2	$Y=4.7318+0.6939x$	2.4349	2.1215~2.7945	79.07	0.7907	-27.01
三环唑-硫磺	1:3	$Y=4.4692+0.7511x$	5.0902	4.4307~5.8479	49.47	0.4947	-39.54

2.2 增效系数与共毒系数的异同分析

用于计算增效系数和共毒系数的数据基础都是 EC_{50} 和单剂在混剂中所占比例,通过公式转换可以看到,其实 2 种计算方法完全一致,增效系数乘以 100 后,在数值上与共毒系数相等,因增效与否的判断标准不同导致了不同的结果。

增效系数和共毒系数的计算公式转换:

$$\text{单剂毒性指数} = \frac{\text{标准 } LD_{50}}{\text{供试单剂 } LD_{50}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{混剂毒性指数} = \frac{\text{标准 } LD_{50}}{\text{供试混剂 } LD_{50}} \times 100 \quad (2)$$

共毒因子 = $[\text{混剂测定死亡率}(\%) - \text{混剂期望死亡率}(\%)] / \text{混剂期望死亡率}(\%) \times 100$

共毒因子在 20 以上为增效作用, -20 以下为拮抗作用, -20 ~ 20 为相加作用。

2 结果与分析

2.1 3 种计算方法的判断结果不同

表 1 是三环唑和硫磺混用后对水稻稻瘟病菌的增效测定结果。由表 1 可以看到,三环唑和硫磺按 3:1、2:1 和 1:1 混用的共毒系数明显大于 100,有增效作用,1:2 和 1:3 混用的共毒系数明显小于 100,为拮抗作用。而 3:1、2:1、1:1 和 1:2 混用的增效系数为 0.5 ~ 1.5,为相加作用,1:3 混用的增效系数小于 0.5,为拮抗作用。3:1、2:1 和 1:1 混用的共毒因子为 -20 ~ 20,为相加作用,1:2 和 1:3 混用的共毒因子小于 -20,为拮抗作用。3 种评判方法的结果并不完全一致。

混剂理论毒性指数 = A 药毒性指数 \times A 药比例 + B 药毒性指数 \times B 药比例 + (3)

$$\text{共毒系数} = \frac{\text{混剂实测毒性指数}}{\text{混剂理论毒性指数}} \times 100 \quad (4)$$

将(1)代入(3)得:

$$\text{混剂的理论毒性指数} = \frac{\text{标准 } LD_{50}}{\text{A 药 } LD_{50}} \times \text{A 药比例} +$$

$$\frac{\text{标准 } LD_{50}}{\text{B 药 } LD_{50}} \times \text{B 药比例} + \cdots \cdots \quad (5)$$

将(2)和(5)代入(4)得:

$$\begin{aligned}
 \text{共毒系数} &= \frac{\frac{\text{标准 } LD_{50}}{\text{混剂 } LD_{50}}}{\frac{\text{标准 } LD_{50}}{A \text{ 药 } LD_{50}} \times A \text{ 药 比例} + \frac{\text{标准 } LD_{50}}{B \text{ 药 } LD_{50}} \times B \text{ 药 比例} + \dots} \times 100 \\
 &= \frac{\text{标准 } LD_{50} \times \frac{1}{\text{混剂 } LD_{50}}}{\text{标准 } LD_{50} \times \frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \text{标准 } LD_{50} \times \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots} \times 100 \\
 &= \frac{\text{标准 } LD_{50} \times \frac{1}{\text{混剂 } LD_{50}}}{\text{标准 } LD_{50} \times (\frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots)} \times 100 \\
 &= \frac{\frac{1}{\text{混剂 } LD_{50}}}{\frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots} \times 100 \\
 &= \frac{\frac{1}{\text{混剂 } LD_{50}} \times \frac{1}{\frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots}}{(\frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots) \times \frac{1}{(\frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots)}} \times 100 \\
 &= \frac{\frac{1}{\frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots}}{\text{混剂 } LD_{50}} \times 100
 \end{aligned}$$

各单剂在混剂中所占比例之和等于1,所以:

$$\text{共毒系数} = \frac{\frac{A \text{ 药 比例} + B \text{ 药 比例} + \dots}{\frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots}}{\text{混剂 } LD_{50}} \times 100$$

$$\text{又: } \frac{A \text{ 药 比例} + B \text{ 药 比例} + \dots}{\frac{A \text{ 药 比例}}{A \text{ 药 } LD_{50}} + \frac{B \text{ 药 比例}}{B \text{ 药 } LD_{50}} + \dots} = \text{混剂的理论 } LD_{50},$$

所以:

$$\text{共毒系数} = \frac{\text{混剂的理论 } LD_{50}}{\text{混剂的实测 } LD_{50}} \times 100 = \text{增效系数} \times 100$$

从上面的公式转换可以看到,表面上不同的2种计算方法,其本质是同一种计算的不同表达公式,因其对混剂增效与否的判断标准不同而给出了不同的增效测定结果。因此确定合理的判断标准是消除不同增效测定结果差异的关键。

2.3 混剂的期望抑制率与共毒因子法

从表2可以看到,将混剂的 EC_{50} 分解为三环唑和硫磺的单剂浓度后,由单剂回归方程计算的期望抑制率均大于50%,其中3:1、2:1和1:1混用

效果的期望抑制率略大于50%,1:2混用效果的期望抑制率为68.5%,1:3混用效果的期望抑制率为82.7%,因此,三环唑和硫磺混用对水稻稻瘟病防治没有体现出增效减量的作用。

在确定室内活性测定的剂量与死亡率(抑制率)的回归关系时,有95%的置信区间(图1),从图1可以看到有一个区间的剂量或浓度可以导致相同的死亡率(抑制率),同样,同一剂量或浓度导致的是一个死亡率(抑制率)的区间范围。

共毒因子大于20,即实测死亡率>期望死亡率+20%期望死亡率,表明混剂有增效作用;共毒因子小于-20,即实测死亡率<期望死亡率-20%期望死亡率,表明混剂为拮抗作用;实测死亡率 \geq 期望死亡率-20%期望死亡率、实测死亡率 \leq 期望死亡率+20%期望死亡率,混剂为相加作用。因此,共毒因子法包含了药剂的同一剂量或浓度造成的死亡率(抑制率)的区间范围,共毒因子只有超出了区间范围才能说明混剂的毒力产生了变化。

表 2 三环唑-硫磺混用对水稻稻瘟病菌防治效果的期望抑制率

Table 2 Expected inhibition rate of tricyclazole-sulfur to rice blast

三环唑-硫磺比例	混剂 EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	三环唑 ($\mu\text{g/ml}$)	硫磺 ($\mu\text{g/ml}$)	期望抑制率(%)		
				三环唑	硫磺	三环-硫磺
3 : 1	0.751 5	0.563 6	0.187 9	47.5	4.2	51.7
2 : 1	0.818 3	0.545 5	0.272 8	47.1	5.5	52.6
1 : 1	0.958 8	0.479 4	0.479 4	45.3	7.9	53.2
1 : 2	2.434 9	0.811 6	1.623 3	52.8	15.7	68.5
1 : 3	5.090 2	1.272 6	3.817 7	59.1	23.6	82.7

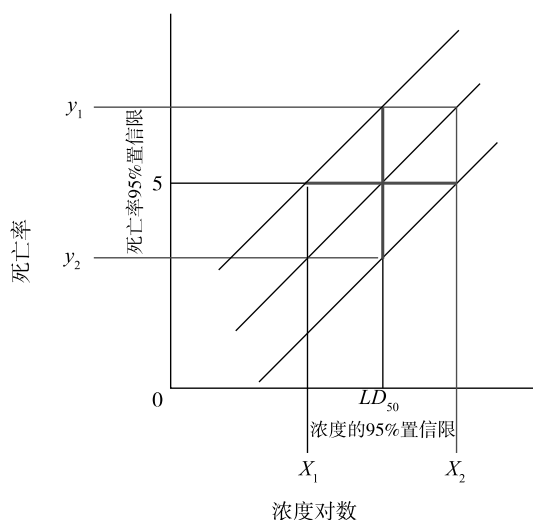


图 1 浓度对数区间与抑制率区间示意图

Fig. 1 Sketch about area of logarithmic concentration and inhibition rate

共毒因子计算中的期望死亡率为 2 个单剂的实测死亡率之和,那么选择不同剂量或浓度的多个期望死亡率,转化成机率值后便形成了混剂的剂量或浓度对数与期望死亡机率的回归线,而期望死亡率 $\pm 20\%$ 期望死亡率转化成机率值后,可形成死亡机率值的相加作用区间,与实测的毒力回归线和 95% 置信限作图(图 2),可以清楚地看到,三环唑和硫磺 3 : 1、2 : 1 和 1 : 1 混用的 95% 置信限与相加作用区间交叉重叠,三环唑和硫磺 1 : 2 和 1 : 3 混用的 95% 置信限在相加作用区间的下方。证实了三环唑和硫磺按 3 : 1、2 : 1 和 1 : 1 混用对水稻稻瘟病菌防治有相加作用,1 : 2 和 1 : 3 混用对水稻稻瘟病菌防治有拮抗作用。

3 讨论

中国常用共毒系数法或增效系数法来判断杀菌

剂混用的增效作用。共毒系数的本质是以致死中量(致死中浓度)作为计算单元,设一标准药剂,并以此为标准将参试的单剂和混剂的绝对毒力转换成相对毒力,按混用比例,将单剂的相对毒力相加后作为混剂的期望相对毒力,与混剂实测的相对毒力进行比较,实测的相对毒力大于期望相对毒力,则为增效作用,实测的相对毒力小于期望相对毒力,则为拮抗作用,实测的相对毒力等于期望相对毒力,则为相加作用。但在田间实际使用中,一些有增效作用的混剂并没表现出农药减量的作用。原因在于作用对象个体间的差异和抗耐药性的不同,或者由于试验的误差,同样的药剂对同一批作用对象的测定结果会有所不同,因此在作回归分析时就会产生一个置信区间。用于计算共毒系数的致死中量(致死中浓度)导致的死亡率实际上是一个有上限和下限的区间,顾中言等^[3]在对 35 种农药进行分析后发现,致死中量(致死中浓度)导致的死亡率区间在 50% 死亡率 $\pm 50\%$ 死亡率 $\times 10\%$ 至 50% 死亡率 $\pm 50\%$ 死亡率 $\times 20\%$,用致死中量计算共毒系数时,忽略了客观存在的死亡率区间,所以用共毒系数判断混剂的增效与否难免会出现偏差^[3]。

增效系数法本质上与共毒系数法一样,只是改变了增效与否的判断标准,同样会出现偏差。共毒因子直接用死亡率进行计算,实测死亡率 $>$ 期望死亡率+期望死亡率 $\times 20\%$,或者实测死亡率 $<$ 期望死亡率-期望死亡率 $\times 20\%$,才表明混剂有增效或拮抗作用,这与致死中量(致死中浓度)导致的死亡区间(50% 死亡率 $\pm 50\%$ 死亡率 $\times 20\%$)一致。将活性测定中混剂的致死中量(致死中浓度)导致作用对象 50% 的死亡率作为实测死亡率,通过共毒因子计算公式求出混剂的期望死亡率区间为 41.67% ~ 62.5%,将混剂导致 50% 死亡率的致死中量(致死

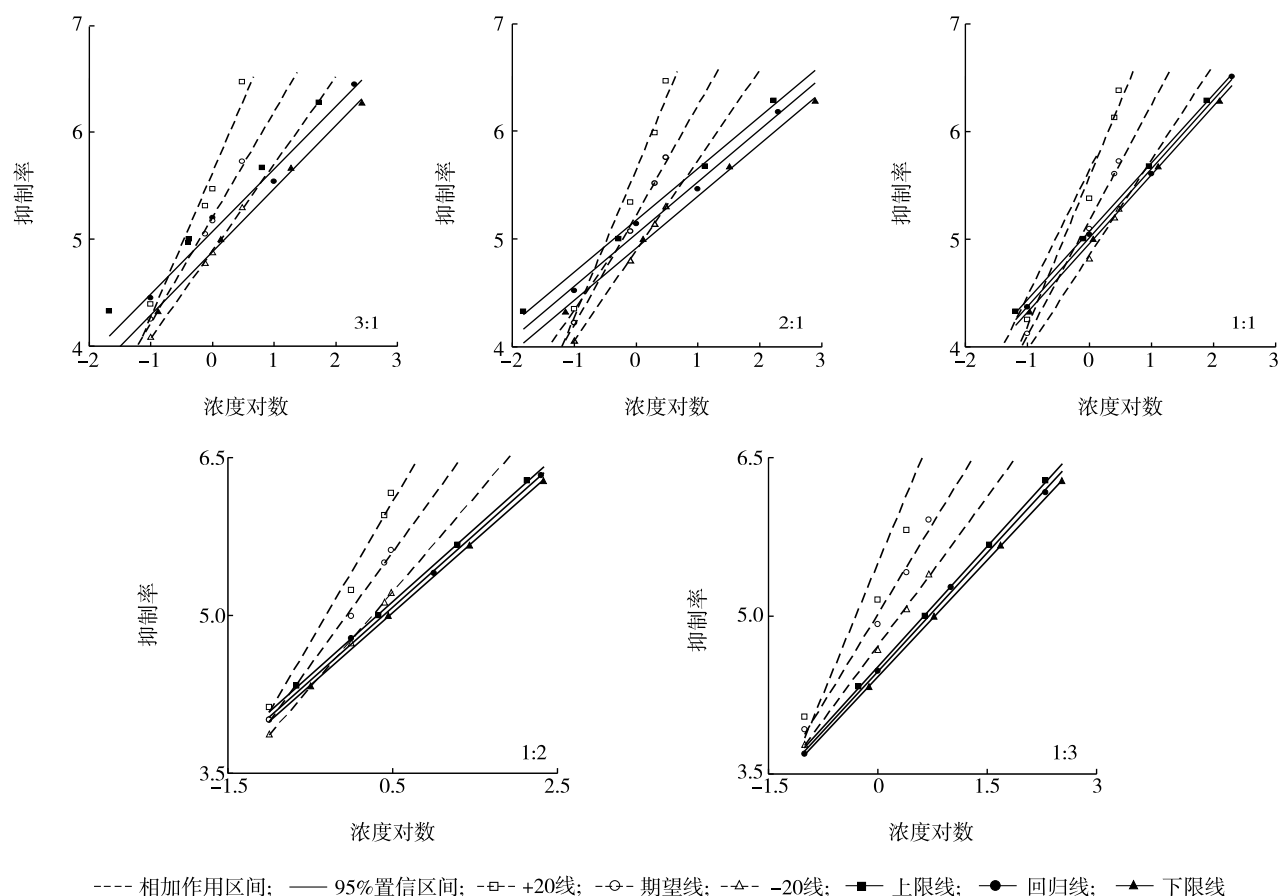


图2 测定毒力线与期望毒力线在坐标中的相对位置

Fig.2 The site of test line and expected line in the coordinate

中浓度)按混配比例分解为单剂的剂量(浓度),通过单剂回归方程求得混剂的期望死亡率,并与期望死亡率区间进行比较,便能得出混剂的增效、相加和拮抗作用。

有机结合共毒系数法和共毒因子法,可以对大量的混配组合进行“定性”筛选和“定量”分析,获得毒力好、增效显著的农药混用配方^[5]。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业行业标准——农药室内生物测定试验标准,杀菌剂第6部分:混剂的联合作用测定:NT/T1156.6-2006[S].
- [2] 顾中言,许小龙,徐德进,等.杀虫剂混合使用的增效作用评判分析[J].农药学报,2009,11(3):304-311.
- [3] 顾中言,陈明亮,许小龙,等.共毒系数在杀虫剂混用联合作用评判中的偏差及校正[J].江苏农业学报,2010,26(6):1238-1246
- [4] MANSOUR N A, ELDEFRAWI M E, TOPPOZADA A, et al. Toxicological studies on the egyptian cotton leafworm, *Prodenia litura*. VI. potentiation and antagonism of organophosphorus and carbamate insecticides[J]. J Econ Entomol, 1960, 59(2):307-311.
- [5] 顾中言,韩丽娟,钟定亮,等.农药复配剂增效作用的定性定量分析[J].江苏农业科学,1990(3):31-34.

(责任编辑:陈海霞)