

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2021.01.009

甲酸乙酯与异硫氰酸甲酯混用 熏蒸菜豆象的最优配方

杨璐¹, 戴仁怀^{1*}, 杨洪¹, 江兆春²

¹贵州大学昆虫研究所/贵州山地农业病虫害重点实验室, 贵州 贵阳 550025;

²贵州省植保植检站, 贵州 贵阳 550001

摘要:【目的】探讨甲酸乙酯与异硫氰酸甲酯混用对菜豆象成虫的熏蒸效果及防治最优化配方。【方法】采用广口瓶密闭熏蒸法,在测得甲酸乙酯、异硫氰酸甲酯 LC_{50} 值的基础上,应用二因子二次通用旋转回归组合设计,根据拉格朗日求极值原理求取防治效果与经济效益均达到要求的最优化配方。【结果】2种药剂对菜豆象成虫的毒力存在较大的差异,其中异硫氰酸甲酯的杀虫效果较强 (LC_{50} 值为 $0.667 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),甲酸乙酯的杀虫效果次之 (LC_{50} 值为 $20.59 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$);通过二因子二次通用旋转回归组合设计可得一个二次多项式,再根据优化目标函数和约束函数,求得混配液中甲酸乙酯的用药量为 $102.702 \mu\text{L}$,异硫氰酸甲酯的用药量为 3.0263 mg 。【结论】当甲酸乙酯与异硫氰酸甲酯比例为 $33.94:1$ 时,可获得最佳经济效益,且杀虫效果最佳。

关键词: 菜豆象; 甲酸乙酯; 异硫氰酸甲酯; 最优配方; 熏蒸



开放科学标识码
(OSID 码)

The optimal formula of the ethyl formate plus methyl isothiocyanate for fumigating *Acanthoscelides obtectus* (Say)

YANG Lu¹, DAI Renhuai^{1*}, YANG Hong¹, JIANG Zhaochun²

¹Institute of Entomology, Guizhou University/Guizhou Provincial Key Laboratory for Agricultural Pest Management of the Mountainous Region, Guiyang, Guizhou 550025, China;

²Guizhou Station of Plant Protection and Quarantine, Guiyang, Guizhou 550001, China

Abstract:【Aim】To investigate the control effect of ethyl formate and methyl isothiocyanate mixture fumigation on the adults *Acanthoscelides obtectus* (Say) and the optimal formula for prevention and control.【Method】A jar airtight fumigation was used to screen optimum formula for *A. obtectus* control. Based on LC_{50} values of ethyl formate and methyl isothiocyanate, the best combination was obtained using two factors quadratic regression rotation combination design and Lagrange multiplier method.【Result】There were significant differences in the toxicity of the two fumigants on the adults *A. obtectus*. The insecticidal effect of methyl isothiocyanate was stronger (LC_{50} value was $0.667 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), followed by ethyl formate (LC_{50} value was $20.59 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$). A quadratic polynomial was obtained by the two-factor quadratic regression rotation combination. Then, by the optimal target function and constraint function, we worked out the values of ethyl formate ($102.702 \mu\text{L}$) and methyl isothiocyanate (3.0263 mg) in the mixture.【Conclusion】When the ratio of ethyl formate to methyl isothiocyanate is $33.94:1$, the best economic benefit and insecticidal effect can be obtained.

Key words: *Acanthoscelies obtectus*; ethyl formate; methyl isothiocyanate; optimal formulation; fumigation

收稿日期 (Received): 2020-10-24 接受日期 (Accepted): 2020-12-11

基金项目: 贵州省菜豆象发生规律和绿色防控技术研究(黔科合支撑[2017]2579); 贵州省高层次创新型人才培养计划(黔科合平台人才[2020]6003)

作者简介: 杨璐, 女, 硕士研究生。研究方向: 农业昆虫与害虫防治。E-mail: 354452920@qq.com

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: rhdai69@163.com

菜豆象 *Acanthoscelus obtectus* (Say) 又名大豆象,属鞘翅目 Coleoptera 豆象科 Bruchidae 三齿豆象属 *Acanthoscelides*,是我国重要的检疫性害虫。菜豆象主要危害菜豆 *Phaseolus vulgaris* L.、豇豆 *Vigna unguiculata* (L.)、绿豆 *Vigna radiata* (L.) 和小豆 *Vigna umbellata* (Thunb.) 等(张润志,2017)。菜豆象主要以幼虫蛀入寄主豆粒内取食,豆粒被菜豆象幼虫蛀食后,由于表面和内部破损,无法食用和销售,失去了食用及商品价值,造成巨大损失;豆粒严重破损后,难以出芽,也不宜再留作种用(申智慧等,2014)。

甲酸乙酯(ethyl formate, EF)常温下为无色液体,是一种防治储粮害虫的新型熏蒸剂,具有氧硫化碳所有的良好特性,能迅速杀死害虫,其残留物能快速降解为甲酸和乙醇(郭道林等,2004)。多种作物储藏期间会自然产生 EF,因此,该药剂的使用不会对储藏物的品质造成影响(Valmas *et al.*, 2006)。2002年,EF已作为处理干果的熏蒸剂在澳大利亚登记注册(Vu & Ren, 2004)。异硫氰酸甲酯(methyl isothiocyanate, MITC)是一种无色固体,微溶于水,沸点高(117~180℃),密度为 1.069 g·mL⁻¹。MITC可以在油菜类蔬菜上自然形成,其自然含量为 0.001~0.05 mg·kg⁻¹(Kirkegaard & Sarwar, 1998; Sarwar & Kirkegaard, 1998; Sarwar *et al.*, 1998),它在保护这些作物免受害虫危害方面发挥着重要作用(Sarwar *et al.*, 1998)。长期以来,储粮害虫的控制主要依赖磷化氢和溴甲烷等药剂,但磷化氢的抗性日益严重(Ren & Mahon, 2006),而溴甲烷因对臭氧层具有破坏作用已被禁用(Ajwa *et al.*, 2003)。有学者用 EF 来熏蒸储粮害虫,然而其使用浓度常接近或高于其燃烧阈值,极易产生安全隐患,因此,开发新型的储粮害虫防治方法极为重要。Ren *et al.* (2005)研究表明,用 EF+MITC 熏蒸米象 *Sitophilus oryzae* Linne 成虫,二者有协同增效作用。因此,本研究在应用二因子二次通用旋转回归组合设计法研究菜豆象成虫死亡几率值与不同浓度熏蒸剂之间相互关系的基础上,计算得到菜豆象死亡几率值与药剂用药量之间的二次多项式方程,结合拉格朗日求极值原理,求取费用最低、杀虫效果最好的配比,以期为入侵害虫菜豆象的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试药剂 98.0% EF 原药(天津市科密欧化学试剂有限公司);98.0% MITC 原药(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.1.2 供试虫源 菜豆象采自贵州省贵阳市花溪粮食市场,在贵州大学昆虫研究所气候箱中进行人工饲养数代。将菜豆象成虫接种于菜豆(经 60℃ 干燥 4 h)中饲养,待成虫产卵 1 周后将其移除,后代在温度(25±1)℃、相对湿度 70%±5%、24 h 黑暗条件下继续饲养多代,以健康成虫(羽化 1~3 d)作为供试虫源。

1.1.3 供试器材 RGL-P400A 型人工气候箱(合肥达斯卡特生物科技有限公司)、1 L 广口瓶、软毛刷、纱布、保鲜膜等。

1.2 实验方法

1.2.1 供试药剂配制 称取 10 mg 的 MITC 溶于 1 mL 的丙酮溶液,得到母液,放入容量瓶中备用。

1.2.2 熏蒸剂的毒力测定 采用广口瓶密闭熏蒸法(李俊等,2006)。将 40 头菜豆象放入 1 L 的广口瓶,广口瓶内放置熏蒸盒(直径 2 cm,高 1 cm)供药剂挥发。在人工气候箱 25℃ 条件下,设置 5 个 EF 浓度梯度(16、18、20、22、24 μL·L⁻¹)和 5 个 MITC 浓度梯度(0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 mg·L⁻¹),熏蒸 24 h,处理结束 24 h 后检查死亡率。

1.2.3 二因子二次通用旋转回归组合实验 以 EF、MITC 的 LC₅₀ 值为基础,使用公式对其进行转换,编制各参试熏蒸剂编码值与所使用熏蒸剂浓度之间的关系表(陶方玲和田世尧,1996),然后参照丁希泉(1986)的二因子二次通用旋转回归组合设计表进行熏蒸实验。对数转换关系式如下:

$$X_i = \log_{10} N_i - \log_{10} N_0 \quad (1)$$

式中, N_i 和 N_0 分别为与 i 水平与 0 水平相对应的杀虫剂使用浓度, X_i 为 i 水平的编码值。

1.3 数据处理

毒力测定数据利用 SPSS 17.0 软件计算出 LC₅₀、LC₉₀、LC₉₉ 值及其毒力回归方程;采用 Excel 2010 软件对二因子二次通用旋转回归组合设计实验数据进行统计分析,得出死亡几率值估计量的二次多项式回归方程及该方程的回归分析结果;运用 Matlab 2018 软件计算出最优化配方。

2 结果与分析

2.1 熏蒸剂的毒力测定

EF、MITC 的毒力测定结果见表 1。2 种药剂对

菜豆象成虫的毒力存在较大的差异,其中 MITC 的杀虫效果较强,其 LC_{50} 值为 $0.667 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;EF 的杀虫效果次之, LC_{50} 值为 $20.59 \text{ } \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 1 2 种熏蒸剂对菜豆象成虫的毒力测定

Table 1 Toxicity test of two fumigants on the adults of *A. obtectus*

熏蒸剂 Fumigant	回归方程 Regression equation	卡方值 Chi-square value	LC_{50}	LC_{90}	LC_{99}
EF	$Y = -20.09 + 15.29X$	4.07	$20.59 \text{ } \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$	$24.91 \text{ } \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$	$29.22 \text{ } \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$
MITC	$Y = 0.323 + 1.838X$	2.926	$0.667 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$3.323 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$12.299 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

2.2 二因子二次通用旋转回归组合设计

熏蒸剂 EF、MITC 编码值与使用浓度之间的关系见表 2。根据表 2 中的用药量,结合二因子二次通用旋转回归组合设计表进行实验,可得各处理条件下菜豆象成虫的死亡几率值(表 3)。根据表 3 中的数据计算可得二次多项式:

$$\hat{Y} = 7.29338 + 1.14915X_1 + 1.12626X_2 - 1.09295X_1X_2 - 0.309X_1^2 - 0.2766X_2^2 \quad (2)$$

式中, \hat{Y} 表示菜豆象成虫死亡几率值的估计量,

X_1 、 X_2 分别为 EF、MITC 用药量的编码值。

为分析该回归方程能否适用于熏蒸剂用药量与菜豆象成虫死亡几率值之间的相互关系,对此式进行回归分析,讨论方程的回归显著性问题,结果如表 4、表 5 所示。由表 4 可知: $R^2 = 0.9867$,说明该回归方程拟合优度很好。由表 5 可知: $P = 0.000023 < 0.01$,故在 $\alpha = 0.01$ 的显著水平下极显著,说明该回归方程能够较好地反映药剂用药量与菜豆象成虫死亡几率值之间的数量关系。

表 2 参试因子用药量与编码值的转换关系

Table 2 Conversion relationship between dosage and coding value of test factors

编码值 Coded value	EF		MITC	
	用药量 Dosage/ μL	用量常用对数值 Log values commonly used for dosage	用药量 Dosage/mg	用量常用对数值 Log values commonly used for dosage
1.414	534.1415	2.72766	17.3032	1.23813
1	205.9	2.31366	6.67	0.82413
0	20.59	1.31366	0.667	-0.17587
-1	2.059	0.31366	0.0667	-1.17587
-1.414	0.7937	-0.10034	0.0257	-1.59007

表 3 二因子二次通用旋转回归组合设计

Table 3 Two factors quadratic regression rotation combination

实验号 No.	X_0	X_1	X_2	X_1X_2	X_1^2	X_2^2	Y
1	1	-1	-1	1	1	1	3.72
2	1	-1	1	-1	1	1	8.09
3	1	1	-1	-1	1	1	8.09
4	1	1	1	1	1	1	8.09
5	1	-1.414	0	0	2	0	4.68
6	1	1.414	0	0	2	0	8.09
7	1	0	-1.414	0	0	2	4.81
8	1	0	1.414	0	0	2	8.09
9	1	0	0	0	0	0	7.12
10	1	0	0	0	0	0	7.41
11	1	0	0	0	0	0	7.41
12	1	0	0	0	0	0	7.41
13	1	0	0	0	0	0	7.12

表 4 回归方程的回归统计表

Table 4 Regression statistics

回归统计 Regression statistics	值 Value
相关系数 R Correlation coefficient	0.9933
测定系数 R^2 Determination coefficient	0.9867
校正测定系数 Adjusted determination coefficient	0.9734
标准误差 Standard error	0.2463
观测值 Observed value	13

2.3 最优化配方

一个最优化配方的评判标准包括 2 个方面:一是对目标害虫菜豆象的防治效果应最好;二是防治菜豆象的费用最省。把对数转换关系式带入(2)式中,可得约束函数:

$$\hat{Y} = 5.6926 + 3.3968 \log_{10}N_1 - 1.093 \log_{10}N_1 \log_{10}N_2 + 0.8368 \log_{10}N_2 - 0.309(\log_{10}N_1)^2 - 0.2766(\log_{10}N_2)^2 \quad (3)$$

式中, \hat{Y} 表示菜豆象成虫死亡几率值的估计量, N_1 、 N_2 分别为EF、MITC用药量, N_1 取值范围[0.7937,534.1415]、 N_2 取值范围[0.0257,17.3032]。

优化目标函数:

$$J = C_1 N_1 + C_2 N_2 = 0.089 N_1 + 0.218 N_2 \quad (4)$$

式中, C_1 、 C_2 分别表示EF、MITC的单价; N_1 、 N_2 含义同(3)式。

根据(3)式、(4)式和拉格朗日求极值原理,求得: $N_1 = 102.702 \mu\text{L}$ 、 $N_2 = 3.0263 \text{ mg}$ 、 $N_1 : N_2 \approx 33.94 : 1$ 。当混配液中EF用药量(N_1)为102.702 μL 、MITC用药量(N_2)为3.0263 mg,2种成分比例约为33.94 : 1时,可获得最佳经济效益,且杀虫效果最佳。

表5 回归方程的方差分析

Table 5 Analysis of variance of regression equation

变异来源 Source of variation	自由度 Degrees of freedom	平方和 Sum of squares	均方 Mean square	F值 F value	P值 P value
回归分析 Regression analysis	6	26.98766	4.49794	74.13806	0.000023
残差 Residual	6	0.36402	0.06067		
总计 Total	12	27.35168			

3 讨论

EF是一种防治储粮害虫的新型熏蒸剂,常温下为无色液体,有学者运用EF熏蒸储粮害虫研究,然而其防治浓度常高于其燃烧阈值(Ren & Mahon, 2003)。姚洁等(2016)在使用EF防治菜豆象的熏蒸实验中发现,不同浓度的EF对菜豆象成虫具有较好的防治效果,但是,由于菜豆象的高龄幼虫和蛹藏于豆粒内,EF对它们的有效熏蒸浓度将会大于50 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$,有效防治浓度值可能会接近或者高于EF的燃烧阈值(84~91 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。MITC是一种无色固体,主要用作土壤熏蒸剂,也有用于熏蒸四纹豆象*Callosobruchus maculatus* Fabricius的报道,当MITC浓度高于0.8 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,处理结束后所有昆虫都死亡(Sanon *et al.*, 2002)。由于EF熏蒸菜豆象幼虫及蛹的有效浓度可能会接近或大于其燃烧阈值,而MITC的成本过高,因此,结合二者的特点,将二者进行混配,既能降低EF的用量又能降低防治成本。

Ren *et al.* (2005)研究表明,米象成虫在5.9 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ EF 25 $^{\circ}\text{C}$ 下熏蒸24 h后不受影响,但在相同的EF浓度下,添加5%的MITC后死亡率可达到99%。所以MITC可以显著降低EF的使用量,使其低于燃烧阈值,它们之间有显著的协同增效作用。但其研究中没有考虑经济效益与杀虫效果之间的关系,因此,本研究应用二因子二次通用旋转回归组合设计,再应用拉格朗日求极值原理,求得最优配方:EF(N_1) : MITC(N_2) $\approx 33.94 : 1$,该方法不仅可以减少大量的实验次数,还可以节约实验成

本,同时又容易筛选出最优化配方。

本研究配比结果是根据室内的实验数据得到的,这只是确定一个好的混配药剂的第一步。虽然该结果可以为EF与MITC混配制剂的开发提供一定的理论依据,但其增效机理尚未清楚,实仓防效也还需进一步验证。

参考文献

- 丁希泉, 1986. 农业应用回归设计. 长春: 吉林科学技术出版社.
- 郭道林, 蒲玮, 严晓平, 陶诚, 2004. 国外储藏物气调与熏蒸研究进展——第八届国际储藏物气调与熏蒸大会国外报告综述. 粮食储藏, 33(6): 44-48.
- 李俊, 邓永学, 王进军, 唐培安, 2006. 甲酸乙酯对嗜卷书虱成虫的熏蒸致死作用研究. 西南大学学报(自然科学版), 28(5): 858-862.
- 申智慧, 刘春, 杨洪, 郑松, 罗全丽, 徐本刚, 2014. 菜豆象的发生与防治. 植物医生, 27(2): 46-47.
- 陶方玲, 田世尧, 1996. 适用于获取最优化配方的一种算法. 生物数学学报, 11(5): 52-57.
- 姚洁, 戴仁怀, 杨洪, 廖应江, 2016. 甲酸乙酯熏蒸菜豆象的初步研究. 植物检疫, 30(4): 17-20.
- 张润志, 2017. 菜豆象 *Acanthoscelides obtectus* (Say). 应用昆虫学报, 54(6): 908.
- AJWA H A, KLOSE S, NELSON S D, MINUTO A, GULINO M L, LAMBERTI F, LOPEZ-ARANDA J M, 2003. Alternatives to methyl bromide in strawberry production in the United States of America and the Mediterranean region. *Phytopathologia Mediterranea*, 42(3): 220-244.
- KIRKEGAARD J A, SARWAR M, 1998. Biofumigation poten-

- tial of brassicas I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil*, 201(1): 71–89.
- VALMAS N, EBERT P R, FOX D, 2006. Comparative toxicity of fumigants and a phosphine synergist using a novel containment chamber for the safe generation of concentrated phosphine gas. *PLoS ONE*, 1(1): e130.
- VU L T, REN Y L, 2004. Natural levels of ethyl formate in stored grains determined using an improved method of analysis. *Journal of Stored Products Research*, 40(1): 77–85.
- REN Y L, LEE B H, WATERFORD C, LEE B H, 2005. Pesticide compositions and methods; US 8278352B2. (2012-10-02) [2020-09-30]. <https://patentimages.storage.googleapis.com/53/c4/0f/de26918280d26e/US8278352.pdf>.
- REN Y L, MAHON D, 2003. Field trials on ethyl formate for fumigation of on-farm storage// WRIGHT E J, WEBB M C, HIGHLEY E. *Stored grain in Australia 2003*. Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference. Canberra, CSIRO Stored Grain Research Laboratory: 210–216.
- REN Y L, MAHON D, 2006. Fumigation trials on the application of ethyl formate to wheat, split faba beans and sorghum in small metal bins. *Journal of Stored Products Research*, 42(3): 277–289.
- SANON A, GARBA M, AUGER J, HUIGNARD J, 2002. Analysis of the insecticidal activity of methylisothiocyanate on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, 38(2): 129–138.
- SARWAR M, KIRKEGAARD J A, 1998. Biofumigation potential of brassicas II. Effect of environment and ontogeny on glucosinolate production and implications for screening. *Plant and Soil*, 201(1): 91–101.
- SARWAR M, KIRKEGAARD J A, WONG P T W, DESMARCHELIER J M, 1998. Biofumigation potential of brassicas III. In vitro toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant and Soil*, 201(1): 103–112.
- (责任编辑: 郑姗姗)
-
- (上接第 35 页)
- PASQUINI S, HAXAIRE M O, RISON J L, 2018. Susceptibility of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) to chlorantraniliprole in the Emilia Romagna Region of Northeast Italy. *Journal of Economic Entomology*, 11(1): 369–374.
- REWITZ K F, KJELLERUP C, RGENSEN A, PETERSEN C, ANDERSEN O, 2004. Identification of two *Nereis virens* (Annelida: Polychaeta) cytochromes P450 and induction by xenobiotics. *Comparative Biochemistry & Physiology Toxicology & Pharmacology Cbp*, 138(1): 89–96.
- TIAN F J, LI C F, WANG Z B, LIU J L, ZENG X N, 2019. Identification of detoxification genes in imidacloprid-resistant Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) and their expression patterns under stress of eight insecticides. *Pest Management Science*, 75(5): 1400–1410.
- VONTAS J G, SMALL G J, HEMINGWAY J, 2001. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochemical Journal*, 357: 65–72.
- WAN F H, YIN C L, TANG R, CHEN M H, WU Q, HUANG C, WALTERS J R, LI F, 2019. A chromosome-level genome assembly of *Cydia pomonella* provides insights into chemical ecology and insecticide resistance. *Nature Communications*, 10: 4237.
- WANG K, HUANG Y N, LI X Y, 2018. Functional analysis of a carboxylesterase gene associated with isoprocarb and cyhalothrin resistance in *Rhopalosiphum padi* (L.). *Frontiers in Physiology*, 9: 992.
- ZHANG Y, LI S, XU L, 2013. Overexpression of carboxylesterase-1 and mutation (F439H) of acetylcholinesterase-1 are associated with chlorpyrifos resistance in *Laodelphax striatellus*. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 106(1): 8–13.
- (责任编辑: 郭莹)