

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

A01N 31/16



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 96120599.7

[43]公开日 1998年6月3日

[11] 公开号 CN 1183215A

[22]申请日 96.11.22

[71]申请人 中国科学院生物物理研究所
地址 100101北京市朝阳区大屯路15号

[72]发明人 张志义 张伟 张红雨
赵红霞 杨红英 刘 铮

[74]专利代理机构 中科专利代理有限责任公司
代理人 严 舫

权利要求书 4 页 说明书 20 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 含竹红菌甲素的新型生物农药杀虫剂及其制法

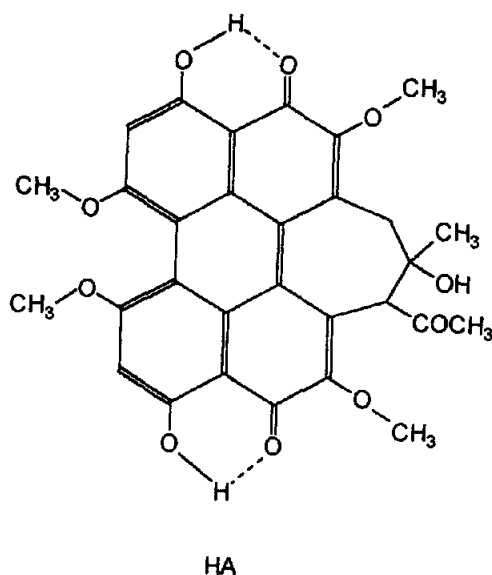
[57]摘要

本发明是关于一种新型生物农药含竹红菌甲素的杀虫剂，特别是用作棉铃虫杀灭剂，它是由主要（有效）组分竹红菌甲素和助剂非离子型表面活性剂（乳化剂）、有机溶剂（渗透剂）、还原剂（稳定剂）、防冻剂及水组成的水乳剂。其制法包括含有效成分竹红菌甲素的原药的提取制备和杀虫剂制剂的配制。该杀虫剂的优点是：防效高，对人畜安全，对皮肤和眼睛均无刺激，并无致突效应，与目前所使用的化学农药和生物农药相比，有较多的优越性，对棉花不产生药害，对天敌有保护作用，保顶和棉铃率高，对杀不死的棉铃虫有滞育作用，对棉蚜虫有抑制作用。

(BJ)第 1456 号

权利要求书

1. 一种新型生物农药杀虫剂，其特征在于含有竹红菌甲素（HA）为有效组分或主要组分、由含有竹红菌甲素 $\geq 60\%$ 的原药与助剂1-5种所组成，所说的助剂包括非离子型表面活性剂（乳化剂）、有机溶剂（渗透剂）、还原剂（稳定剂）、防冻剂及水，所说的竹菌甲素（HA）是属于4, 9-二羟基-3, 10-萘醌衍生物，分子式为 $C_{30}H_{26}O_{10}$ ，分子量546，结构式为：



2. 如权利要求1所述的农药杀虫剂制剂，其特征在于如下组成及含量（重量%）的配方：

竹红菌甲素（HA）	0.135—0.55%
表面活性剂	15—30%
水	为其余百分量

其中所说的表面活性剂（或乳化剂），包括辛基酚聚氧乙烯醚、壬基酚聚氧乙烯醚、长链脂肪醇聚氧乙烯醚，所说的水为饮用水、自来水、井水、河水。

3.如权利要求2所述的农药杀虫剂制剂,其特征在于还包含有机溶剂(或渗透剂),各组分及其含量(重量%)的配方如下:

竹红菌甲素(HA)	0.135-0.55%
表面活性剂	1.5-30%
有机溶剂	5-20%
水	为其余百分量,

其中所说的有机溶剂为丙酮和醇类,包括甲醇、乙醇、丙醇、异丁醇。

4.如权利要求3所述的农药杀虫剂制剂,其特征在于还包含还原剂,各组分及其含量(重量%)配方如下:

竹红菌甲素	0.135-0.55%
表面活性剂	1.5-30%
有机溶剂	5-20%
还原剂	0.135-0.55%
水	为其余百分量

其中所说的还原剂为氨基酸类,包括组氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸。

5.如权利要求4所述的农药杀虫剂制剂,其特征在于还包含防冻剂,各组分及其含量(重量%)配方如下:

竹红菌甲素(HA)	0.135-0.55%
表面活性剂	1.5-30%
有机溶剂	5-20%
还原剂	0.135-0.55%
防冻剂	0.5-1.0%
水	为其余百分量

其中所说的防冻剂为丙三醇。

6.如权利要求5所述的农药杀虫剂制剂,其特征在于优选的组分及其含量(重量%)配方如下:

竹红菌甲素(HA)	0.55%
表面活性剂	30%
有机溶剂乙醇	10%

还原剂蛋氨酸	0.55%
防冻剂丙三醇	0.5%
水	为其余百分量

7. 如权利要求 5 所述的农药杀虫剂制剂，其特征在于优选的组分及其含量（重量%）配方如下：

竹红菌甲素（HA）	0.28%
表面活性剂 ₀₉	2.5%
有机溶剂甲醇	5%
还原剂半胱氨酸	0.28%
防冻剂丙三醇	1.0%
水	为其余百分量

8. 如权利要求 5 所述的农药杀虫剂制剂，其特征在于优选的组分及其含量（重量%）配方如下：

竹红菌甲素（HA）	0.14%
表面活性剂Tritonx-100	2.0%
有机溶剂异丙醇	1.0%
还原剂组氨酸	0.30%
水	为其余百分量

9. 一种新型生物农药竹红菌甲素（HA）杀虫剂的制造方法，其特征在于可如下各道工序：（1）含有有效成分竹红菌甲素 $\geq 60\%$ 的原药的提取制备，（2）杀虫剂水乳型制剂各组分的配制比例，及（3）杀虫剂制剂的配制方法，其中

（1）原药的提取制备工序（在同时申请的另一原药制法专利申请中已有详细描述），包括将竹红菌体连续进行粉碎、用有机溶剂丙酮浸泡、提取、固液分离、提取液减压浓缩、再次固液分离、制浆洗涤纯化及干燥，其中所说的粉碎，要求筛分得到级分 < 20 目的粒度；浸泡和提取在提取罐中进行，以两酮为溶剂，浸泡的原料溶剂固液比（S：L）= 1：1.0，在常温下浸泡 1.2 小时；提取可进行 2 - 3 次，第一次提取的固液比（S：L）= 1：1.0，温度 $50 \pm 2^\circ\text{C}$ ，经过约 4 小时，第二次提

取的固液比 (S : L) = 1 : 8, 在同样温度下微沸回流 2 小时, 第三次提取是以固液比 (S : L) = 1 : 6, 微沸回流 1 小时; 提取物的固液分离是使用沉降、板框或滤棒过滤, 使滤液通过 200 目, 或 2 # 滤布 ($\phi = 0.5 \mu\text{m}$), 减压浓缩是控制温度于约 55°C , 排料固液比 = 1 : 2, 使浓缩成膏状; 再次固液分离是在 $> 1000 \text{ rpm}$ 离心机中, 过滤孔径为 $\phi = 0.5 \mu\text{m}$; 制浆洗涤纯化工序中有两种方案: (1) 用石油醚洗涤, 固液比 = 1 : 10 - 1 : 6, 温度约 50°C , 洗涤 2 次, (2) 先用热水洗涤, 即用万分之五的表面活性剂溶液洗涤, 温度 $40 - 60^\circ\text{C}$, 然后用煤油洗涤, 固液比 = 1 : 6, 温度约为 40°C ; 干燥是在 60°C 的烤箱中烘约 4 小时, 使水分含量 $< 5\%$, 原药产品要求有效成 HA $\geq 60\%$;

(2) 杀虫剂制剂各组分的配制比例如权利要求 5 所述;

(3) 杀虫剂的配制方法: (a) 按照所需比例, 将原药加入到表面活性剂中制成胶束, 通过胶体磨研磨, 使 HA 细度 $\leq 5 \mu\text{m}$, 然后视需要加入有机溶剂和防冻剂, 搅拌均匀; (b) 按照比例将还原剂 (必要时) 加入水中, 搅拌溶解; 将上述 (a) 和 (b) 两种物质混合拌匀、分装。

10. 如权利要求 1-5 中任何一项所述的杀虫剂的应用, 主要是用作杀灭棉铃虫。

说 明 书

含竹红菌甲素的新型生物农药杀虫剂及其制法

本发明是关于一种新型生物农药，具体是以竹红菌甲素为有效组分的杀虫剂，竹红菌素是从真菌体中提取获得的天然化合物[※]醌衍生物。

农药是一个巨大的产业，市场需求巨大。国际生产的化学农药产品约有2000种，中国生产的有1500种左右。九十年代生产的化学农药品种、产量和产值虽仍占主要地位，但是由于化学农药的高毒性、污染环境，对人畜不安全及易产生抗药性等弊端，所以化学农药市场已停滞不前，并出现负增长。代之化学农药的是蓬勃发展的生物农药。有资料报道称，到本世纪末，生物农药的产量将达到60%，占领农药市场的主导地位。

据统计，我国重要农作物的病虫害近百种，常年发生病虫害面积30亿亩次。由于病虫害不能有效控制，每年减产水稻10%、小麦20%、棉花20—40%。一九九二年，我国棉铃虫大爆发，造成棉花减产超过30%。因此开发防治棉铃虫的新型生物农药，成为当务之急的重大任务。

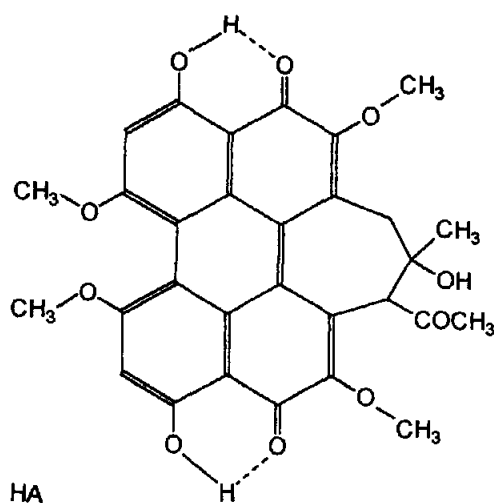
现在已有的防治棉铃虫的生物农药主要有苏云金杆菌（B T）和核多菌体病毒（NPV）杀虫剂两种。但它们防治棉铃虫的药效，目前尚不理想，科技研究的关键是提高B T和病毒杀虫剂的毒力。

本发明的目的正是针对目前防治棉铃虫的化学农药和生物农药的缺点，从1992年开始，独辟蹊径，从真菌类竹红菌入手研制开发防治棉铃虫的新型生物农药，目的是寻求有更高毒力的杀灭棉铃虫的杀虫剂，同时克服目前化学杀虫剂污染环境、对人畜不安全及易产生抗药性等缺点。

经有关文献检索查新证明，现在国内外未见有关竹红菌甲素（H A）作为农药杀虫剂、杀菌剂的报道。因此本发明的竹红菌甲素杀虫剂属于国

内外首创新型生物农药。

本发明提供了一种新型生物农药竹红菌甲素为活性有效组分的杀虫剂及其制法。本发明杀虫剂竹红菌甲素（英文名：Hypocrellin A，简称HA）属于4,9-二羟基-3,10-花醌衍生物(4,9-dihydroxy-3,10-perylene-quinone derivative)，其分子式为 $C_{30}H_{26}O_{10}$ ，分子量546，结构式为：



本发明杀虫剂的竹红菌甲素是提取自天然微生物真菌竹红菌，竹细菌是属于子束菌纲、肉座菌科、亚肉座菌属的真菌，为我国特有野生资源。已知，竹红菌甲素是一种天然有机色素，具有光敏性质；其标准品的理化性质：红色晶体，无臭，无味，纯度98%，熔点209—210℃，易溶于氯仿、丙酮、乙酸乙酯，溶于甲醇，乙醇，微溶于石油醚，不溶于水，不易发生水解作用，但在碱性环境中可自敏光氧化发生光解作用；现在民间用作药物治疗胃痛和关节炎并且是治疗皮肤病、抗肿瘤、抗艾滋病的潜在的有效光敏药物。

本发明竹红菌甲素杀虫剂制剂，拟定的商品名称为“龙弗特”，为一种水乳剂型，即为乳油和水剂的改进剂型。该杀虫剂是以竹红菌甲素（HA）为主要组份，以水为基质，加入表面活性剂和其他助剂，其优点是不可燃、储存运输安全、不易产生药害，同时提高了药效。

本发明竹红菌甲素（HA）杀虫剂，是由含有有效组分竹红菌甲素≥60（重量）%的原药并向其中添加助剂组成，所说的助剂包括非离子型表面活性剂（乳化剂）、有机溶剂（渗透剂）、还原剂（稳定剂）、防冻

剂及水。其中所说的表面活性剂有Tritonx-100（辛基酚聚氧乙烯醚）、OP₁₀（壬基酚聚氧乙烯醚）、O₉（长链脂肪醇聚氧乙烯醚）等；有机溶剂为丙酮和醇类，包括甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇等；还原剂为氨基酸类，例如组氨酸、蛋氨酸、半胱氨酸等；防冻剂为丙三醇；水为一般饮用水、自来水、井水、河水等。

该杀虫剂是由含有有效组份竹红菌甲素 ≥ 60 （重量%）的原药组成，或者再向其中添加上述五种助剂（表面活性剂、有机溶剂、还原剂、防冻剂及水）的1—5种配制成杀虫剂制剂组成。

该杀虫剂一些主要制剂中各组分的选用及其配制比例（重量百分）如下：

制剂配方1：

竹红菌甲素（HA）	0.135—0.55%
表面活性剂	1.5—30%
水	为其余百分量

制剂配方2：

竹红菌甲素（HA）	0.135—0.55%
表面活性剂	1.5%—30%
有机溶剂	5—20%
水	为其余百分量

制剂配方3：

竹红菌甲素（HA）	0.135—0.55%
表面活性剂	1.5%—30%
有机溶剂	5—20%
还原剂	0.135—0.55%
水	为其余百分量

制剂配方 4 :

竹红菌甲素 (H A)	0.135 - 0.55%
表面活性剂	15% - 30%
有机溶剂	5 - 20%
还原剂	0.135 - 0.55%
防冻剂	0.5 - 1.0%
水	为其余百分量

该杀虫剂制剂的配制方法如下:

(1) 按照比例, 将原药 (H A \geq 60%) 加入到表面活性剂中制成胶束, 通过胶体磨研磨, 使 H A 细度 \leq 5 μ m, 然后视需要加入有机溶剂和防冻剂, 搅拌均匀;

(2) 按照比例将还原剂 (必要时) 加入水中, 搅拌溶解;

(3) 将上述 (1) 和 (2) 两种物质混合, 搅拌均匀, 分装。

本发明竹细菌甲素杀虫剂的生产工艺, 包括原药的提取制备, 性能鉴定、杀虫剂制剂的配制、成品理化性质的检验、分装等几步工序。

1. 原药 (含有有效组份竹细菌甲素) 的提取制备: 以特产于我国滇西北、川西南、藏东南等地区的野生竹红菌 (*Hypocrella bambusae* (B. et Br) Sacc) 或竹黄菌 (*S. bambusicola* p. Henn.) 为原料, 该菌体含有竹红菌甲素光敏素 3.47 - 3.94%, 其性状为: 子座肉质, 干后软木质、褐红色, 遇碱后变绿色、半球型、有孔口、直径 1 - 2 厘米, 具有扭曲呈绳状的 8 个蠕虫形孢子特征。原药的提取制备, 是利用丙酮提取并经过纯化和理化性质检验。即将竹红菌 (或竹黄菌) 连续进行破碎、有机溶剂提取、过滤、提取液浓缩、其中有效组分竹红菌甲素 (H A) 含量 \geq 60% (重量), 其余 \leq 40% 的杂质主要是脂肪酸 (十六碳烯酸和十八碳烯酸)、脂肪酸甘油酯 (三脂肪酸甘油酯), 甘露醇等, 这些杂质不影响药效和防治效果。

本发明杀虫剂原药的提取制备具体工艺方法和要求如下 (该工艺方法的更加详细描述已在同日申请的另一份专利申请文件中报道):

将自然保存干燥的竹红菌或竹黄菌先进行粉碎，筛分后得到粒度 <20 目的原料，再将该原料连续经过浸泡、提取、固液分离、减压浓缩、再次固液分离、制浆洗涤及干燥等工序制得原药产品。其中所说的浸泡是在提取罐中将原料用丙酮以体积固液比 $(S:L) = 1:10$ 在常温下浸泡 $1-2$ 小时；提取可以进行 $2-3$ 次，第一次是在提取罐中将浸泡后的原料用丙酮以固液比 $(S:L) = 1:10$ 保持 $50 \pm 2^\circ\text{C}$ ，使出现液流状态，经过约 4 小时，第二次提取是在提取罐中以原料与丙酮的固液比 $(S:L) = 1:8$ 于同样温度下微沸回流的 2 小时，第三次提取在同样条件下以其固液比 $(S:L) = 1:6$ 微沸回流约 1 小时；然后将提取物进行固液分离，在固液分离工序中，(1) 沉降过滤要求提取液通过 100 目的双层沉降，或板框过滤或滤棒过滤，(2) 板框过滤要求提取液通过 $2^\#$ 滤布 $\phi = 0.5 \mu\text{m}$ ；此后对提取液进行减压浓缩，使其处于减压回流状态，温度控制于约 55°C ，浓缩至膏状，排料固液比 $(S:L) = 1:2$ 或稍大，同时回收溶剂；再次固液分离，是在 >1000 rpm的离心机中进行，过滤孔径为 $\phi = 0.5 \mu\text{m}$ ；制浆纯化洗涤工序中的两种方案均为本发明的首创，具有洗涤效果好、工序简便经济：(1) 石油醚洗涤，固液比 $(S:L) = 1:10 - 1:6$ ， $1:8$ 较佳，温度保持约 50°C ，洗涤 $2-3$ 次，实验室用此方案较好，(2) 先用热水洗涤，在 $40 - 60^\circ\text{C}$ ，采用万分之五的表面活性剂水溶液，然后用煤油洗涤，固液比 $(S:L) = 1:6$ ，温度约为 40°C ；最后为干燥工序，是将中间体在约 60°C 的烘干箱中烘干约 4 小时，得到含水量 $<5\%$ 的产品。最后还需分析产品纯度和测定总回收率。原药产品要求其中有效成分 $HA \geq 60\%$ ，其理化性质：(1) 外观：红棕色粉末状固体；(2) 气味：无刺激性气味，有类似中药的气味；(3) 溶解度：不溶于水，可溶于大多数有机溶剂，制成的胶束可溶于水；(4) 有少量丙酮不溶物；(5) 酸度(以 H_2SO_4 计)： $\leq 0.1\%$ ；(6) 热稳定性($50 \pm 1^\circ\text{C}$)， 14 天分解率 ≤ 5.0 ；(6) 常温下自然曝露 1 周分解率 $\leq 5.0\%$ 。

2. 原药中杂质的分离与分析：按照已有方法，通过薄层层析，可将杂质脂肪酸、脂肪酸甘油酯以及同属于 $4, 9$ -二羟基- $3, 10$ -蒽醌衍

生物的竹红菌乙素（简称HB，分子式为 $C_{30}H_{24}O_9$ ，分子量528）与竹红菌甲素（HA）分离开，从而采用吸收光谱法可测定原药中的HA含量。同时利用吸收光谱、质谱和核磁共振法，可鉴定出原药中的各种杂质。利用薄层层析—吸收光谱法，测定《龙弗特》原药和制剂中HA含量，是一种方便，准确的分析方法。用该方法可控制原药HA含量 $\geq 60\%$ 和制剂中HA含量 $\geq 0.55\%$ 的定量指标。

3.竹红菌甲素杀虫剂制剂：“龙弗特”的配制方法及组分的含量比例范围，详见上述。制剂中竹红菌甲素（HA）的用量为 $0.135 - 0.55$ （重量）%，其余组分包括水、表面活性剂和其他助剂等总含量共计约 99.45% ，但不同配方制剂中各组分的含量比例不同。

实施例1

按照上述方法，从竹红菌体中提取、制备和纯化，得到有效组分竹红菌甲素的原药。取原药配制竹红菌甲素（HA）杀虫剂。本实施例1配方，拟定名为 0.55% HA的“龙弗特”水乳剂，或叫做“萜醌类光诱导杀虫剂”，其中各组分含量（重量%）如下：

有效成分HA	0.55%
表面活性剂OP ₁₀	30%
有机溶剂乙醇	10%
还原剂蛋氨酸	0.55%
防冻剂丙三醇	0.5%
水	为其余百分量

该制剂的酸度（以 H_2SO_4 计） $\leq 2.0\%$ （为蛋氨酸和硬脂酸所致），不影响作物生长；热稳定性（ $50 \pm 1^\circ C$ ，14天分解率） $\leq 2.5\%$ ；常温下自然光曝露1周分解率 $\leq 2.5\%$ ，其理化性质：（1）外观：深红色液体；（2）气味：无不良刺激性气味；（3）密度（或比重）： $1.008g/ml$ ；（4）可燃性：无可燃性。

本实施例 0.55% HA的水乳剂防治棉铃在山东无棣县的实验结果详见后附表1至表4，在河北省南宫市的田间试验结果见后附表5以及在河南省新乡县

的田间试验结果见后附表6。

实施例 2

该杀虫剂原药的制法如前述，制剂的配方如下：

有效成分 H A	0.28%
表面活性剂 O ₉	25%
有机溶剂乙醇	5%
还原剂蛋氨酸	0.28%
防冻剂丙三醇	1.0%
水	为其余百分量

本实施例0.28%竹红菌甲素水乳剂防治三代棉铃虫田间药效试验结果(与化学农药对比)见后附表7和表8。

实施例 3

该杀虫剂的配方如下：

有效成分 H A	0.14%
表面活性剂 Tritonx-100	20%
有机溶剂异丙醇	10%
还原剂组氨酸	0.30%
防冻剂丙三醇	1.0%
水	为其余百分量

本实施例0.14%竹红菌甲素水乳剂防治三代棉铃虫田间药效试验结果(与化学农药对比)见后附表9和表10。

4. 毒性试验

根据国家农业部农药检定所对生物农药登记资料中关于毒理学的要求及其具体建议，本发明过程作了如下试验：

(1) 急性毒性：成年大鼠，原药经口、经皮 L D₅₀ 均大于 10g/kg.bw；制剂经口 L D₅₀ 也大于 10g/kg.bw，经皮 L D₅₀ 大于 2g/kg.bw，并且受试动物在上述剂量时均无一死亡，也无其他异常反应，

都生长良好。结论：都属于低毒级，实际上为微毒级。另外，制剂对家兔一次性刺激眼睛实验和皮肤刺激实验，结论是对眼睛和皮肤均无刺激。

(2) 原药致突性试验：Ames试验和小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率测定结果均为阴性，即无致突效应。

以上两项毒理试验是由国家质量认证单位和农业部农药检定所认可单位（中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所和劳动卫生与职业病研究所）承担完成。

5. 田间药效试验

为了明确本发明新型生物农药“龙弗特”0.55%、0.28%及0.14%的HA水乳剂防治棉铃虫的药效、适宜剂量、适宜用药时间以及该药剂对防治棉铃虫的持续时间，曾经进行了一系列田间药效试验。

(1) 供试药剂

试验药剂：0.55%、0.28%及0.14%的HA水乳剂。

对照化学农药：20%灭多威乳油或50%甲胺磷或40%久效磷，

对照生物农药：苏云金杆菌悬浮剂（BT）

空白对照：喷清水

(2) 试验地点：三省五地区，包括山东省无棣县、禹城市；河南省新乡县、镇平县；河北省南宫市。

(3) 试验处理例

a. 0.55%HA水乳剂稀释1000倍；

b. 0.55%HA水乳剂稀释500倍；

c. 0.55%HA水乳剂稀释333倍；

c. 40%久效磷乳油稀释1000倍，50%甲胺磷稀释800倍，20%灭多威乳油稀释1000倍；

d. 苏云金杆菌悬浮剂，稀释300倍，200倍，100倍

e. 清水对照

以上处理均喷施药液50公斤/亩，即常量喷雾，清水喷雾采用新购喷雾器

(4) 小区排列

本试验设6个处理，每个处理4次重复，共24个小区，小区随机安排，每个小区面积约50m²。

(5) 施药时间及次数

在棉田一代棉铃虫产卵孵化高峰期，下午4时施药，施药一次（无棣县施药2次）。

(6) 试验调查、记录和测量方法

调查，是每小区随机取样牌固定5点，每点固定5株有棉铃虫卵和幼虫的棉株，共25株，并记录卵数和幼虫数，即卵按白、黄、黑分别记载，施药前调查定点株上的卵数和幼虫数，施药后1天，3天，5天，7天分别调查一次，并在施药后7天调查顶芽蕾铃被害率（按计算公式）。同时观察对作物是否产生药害及药害程度。于施药最后一次调查统计天敌总量，以了解对天敌和作物的影响。

(7) 试验结果

综合分析三省五地区用0.55%，0.28及0.14%的HA水乳剂防治棉铃虫的田间药效试验结果，下面以0.55%HA水乳剂为例，概括如下：

a. 药效：根据在山东省无棣县防治棉铃虫的田间试验结果，证明0.55%的HA水乳剂以50-150ml/亩的施药量，是防治棉铃虫的有效农药（见后附表1）；施药后三天校正防效达到90%以上（见后附表2）；施药后一天0.55%HA水乳剂（150ml/亩），较其他农药或处理有更强的杀虫击倒力（68.9%）（见后附表3）；以及0.55%HA水乳剂三个处理（50ml/亩，100ml/亩和150ml/亩）的保蕾效果均在80%以上，顶芽被害率在4.5%以下（见后附表4）。另据河北省南宫市的田间试验结果，证明0.55%HA水乳剂稀释333倍溶液防治二代棉铃虫，药后一天的防效达到66.4-69.9%，高于商品农药甲胺磷和BT，施药后七天校正防效达到88.6%，与甲胺磷的防效相当，但保顶尖效果显著优于甲胺磷，试验期间未发现药害现象（见后附表5）。又如河南省新乡县田间试验结果，证明0.55%HA水乳剂（150ml/亩）的药效与灭多威乳油相同，但能更好地保护天敌（见后附表6）。

b. 对照：总体看，本发明药剂防治效果优于市售生物农药苏云金杆菌悬浮剂（BT），也优于久效磷和甲胺磷高毒化学农药（50ml药剂/

亩)，虽略低于20%灭多威乳油（50ml药剂/亩），但0.55%HA水乳剂能保护天敌，而灭多威却将天敌全部杀灭，从而不利于对棉铃虫继后的防治效果。而在施药后一、两天内，本发明“龙弗特”水乳剂的杀虫效力虽不如20%灭多威乳油（50ml/亩），但随时间推移，防效不断上升，第七天后防效达到89%以上，说明药效发挥较缓慢，但有很好的持效期。

关于0.28%和0.14%的HA水乳剂防治三代棉铃虫田间药效试验结果，详见后附表7,表8,表9及表10。

c. 本发明杀虫剂的特色：对棉花无药害；对天敌有保护作用；保顶芽和蕾铃率高；对杀不死的棉铃虫有滞育作用；对棉蚜还有抑制作用；HA暗反应具有相当高的杀虫效果（见后机理说明）。

d. 适宜施药期，施药量和施药次数：适宜施药期为棉铃虫产卵盛期和孵化期，下午4时用药；适宜施药量为150ml制剂/亩；适宜施药次数，一般年份一周施药一次，棉铃虫大发生年份，一周施药两次，常量喷雾。此外，本发明药剂忌用碱性水稀释，并禁忌与碱性农药混用。

结论：三省农药检定所一致结论是：0.55%HA水乳型杀虫剂是防治棉铃虫的有效药剂，值得生产和推广应用。

6. HA杀虫机理：根据已有基础性研究结果，HA是脂溶性化合物，它进入生物系统主要浓集在细胞膜，对生物损伤的主要靶体是细胞膜。HA的杀虫作用机理，根据基础性研究结果推断，一是暗反应：热化学机理；二是光诱导的光敏作用机理或光动力作用机理。热化学机理，是在某些还原剂存在下，HA作为电子传递的中介体，将由还原剂获得的电子传递给氧分子，产生超氧阴离子自由基（ $O_2^{\cdot -}$ ）和羟基自由基（ $\cdot OH$ ），而 $\cdot OH$ 具有非常强的活性，可引起细胞膜脂质过氧化，损伤膜蛋白，导致活细胞死亡；光敏作用机理认为，HA在均相和非均相溶液中，受可见光照射，通过光敏作用，不仅可产生 $O_2^{\cdot -}$ ， $\cdot OH$ ， $sens^{\cdot -}$ 和 $sens^{\cdot +}$ 等自由基，还能产生氧化活性很强的单重态氧（ 1O_2 ），这种活性瞬态物质都能引起活细胞膜光敏损伤，造成活细胞死亡。以上作用都是特殊的诱导作用而杀虫。

表2 0.55%HA水乳剂试验结果(校正防效)

处 理	施药后第一天					施药后第三天					施药后第七天					备注
	I	II	III	IV	平均	I	II	III	IV	平均	I	II	III	IV	平均	
	A:0.55%龙费特水 剂50m l / 亩	49.7	51.0	63.7	54.4	54.7	100	96.8	83.8	82.2	90.7	95.6	91.4	74.3	90.5	
B 0.55%龙费特水 剂100m l / 亩	57.7	64.0	60.6	62.4	61.2	94.9	100	88.7	95.8	94.9	89.7	98.9	87.7	87.8	91.0	
C:0.55%龙费特水 剂150m l / 亩	74.1	67.7	64.1	69.5	68.9	95.0	97.5	98.5	93.1	96.0	88.4	92.7	98.8	85.2	91.3	
D. BT500m l / 亩	27.3	21.5	19.7	22.4	22.7	75.5	77.7	80.2	78.4	78.0	77.3	62.7	77.6	80.9	74.6	
E. 20%灭多威乳油 2000倍	46.3	45.7	44.2	39.6	44.0	82.2	83.8	90.8	90.5	86.8	81.4	74.2	81.9	77.8	78.8	

表3 0.55%HA水乳剂击倒力(%)试验结果检验

处 理	一 天		三 天		并 异 显 著 性		七 天		差 异 显 著 性			
	差 异 显 著 性		差 异 显 著 性		5%		1%		5%		1%	
	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%
C	68.9	A	96	A	A	A	91.3	A	A	A	A	A
B	61.2	B	94.9	AB	AB	A	91	A	A	A	A	A
A	54.7	C	90.7	B	AB	A	88	AB	AB	AB	AB	AB
E	44	D	86.8	C	AB	AB	78.8	B	B	B	AB	AB
D	22.7	E	78	D	C	B	74.6	B	B	B	B	B

A=0.55HA水乳剂50ml/亩, B=0.55HA水乳剂100ml/亩
 C=0.55HA水乳剂150ml/亩, D=BT水乳剂500ml/亩
 E=20%灭多威乳油2000倍水液

表4 保蕾效果及顶芽被害率

处理	重复	调查花蕾数 (个)	被害花蕾数 (个)	花蕾被害率 (%)	平均 (%)	保蕾效果%	调查株数 (个)	生长点数 数	顶芽被害率 (%)	平均 (%)	备注
A:0.55%龙费 特水剂(50 ml / 亩)	1	100	12	12	12.5	80.3	100	4	4	4.5	
	2	100	11	11			100	5	5		
	3	100	13	13			100	6	6		
	4	100	13	13			100	3	3		
A:0.55%龙费 特水剂(100 ml / 亩)	1	100	8	8	8	37.4	100	4	4	3.25	
	2	100	8	8			100	3	3		
	3	100	9	9			100	4	4		
	4	100	7	7			100	2	2		
A:0.55%龙费 特水剂(150 ml / 亩)	1	100	6	6	6	90.6	100	2	2	1.75	
	2	100	5	5			100	3	3		
	3	100	5	5			100	2	2		
	4	100	8	8			100	0	0		
BT (50 ml / 亩)	1	100	15	15	15	76.4	100	7	7	6.5	
	2	100	16	16			100	6	6		
	3	100	15	15			100	8	8		
	4	100	14	14			100	5	5		
20%灭多威 乳油(2000倍)	1	100	8	8	8.25	87.0	100	6	6	4.5	
	2	100	8	8			100	5	5		
	3	100	9	9			100	3	3		
	4	100	8	8			100	4	4		
CR	1	100	60	60	63.5		100	19	19	18.75	
	2	100	60	60			100	18	18		
	3	100	66	66			100	20	20		
	4	100	68	68			100	18	18		

表5 0.55%HA水乳剂防治棉铃虫的河北省南官市田间试验

处理	重复	调查株数		药后一天		药后三天		药后七天		保蕾效果 %	保尖效果 %						
		株数	基数	幼虫	卵	校正防效 %	虫口减退率 %	幼虫	卵			校正防效 %	虫口减退率 %	幼虫	卵	校正防效 %	虫口减退率 %
HA 333倍	1	25	26.3	3.8	8.8	3.1	26	1.9	1.9	1.9	1.3	1.8	1.3	0	0	0	0
	2	25	31.9	5	13.8	1.9	61.7	1.9	0	0	0	3.1	0	0	0	0	0
	3	25	40	1.9	21.9	0.6	58.1	13.8	0	0	0	5.6	0	0	0	0	0
	4	25	20	0.6	14.4	0.6	16.7	6.9	0	0	0	2.5	0	0	0	0	0
HA 500倍	1	100	118.2	11.3	58.9	6.6	43.2	74.5	1.9	84.3	83.4	15	1.3	85.7	4.5	55	73.4
	2	25	52	3.1	20.6	0	0	6.9	0	0	0	0	0.6	0	0	0	0
	3	25	28.8	1.9	13.8	2.5	0	5	0.6	0	0	5	1.3	0	0	0	0
	4	25	21.3	1.9	17.3	0.6	0	5	0.6	0	0	5	2.5	0	0	0	0
甲胺磷 800倍	1	100	101.5	8.8	64.4	4.4	46.6	69.9	21.3	82.6	81.6	15	2.5	79.2	3.3	67.3	68.1
	2	25	18.8	1.3	19.4	2.5	0	5	0	0	0	11.3	0	0	0	0	0
	3	25	4.9	1.9	16.8	1.3	0	8.1	1.3	0	0	5.6	0.6	0	0	0	0
	4	25	17.5	0.6	11.9	0.6	0	9.4	1.3	0	0	2.5	0	0	0	0	0
HA 1000倍	1	100	97	5.1	62	5	13.8	51.4	30	64.6	62.5	25.7	0.6	87	3.5	65.3	46.8
	2	25	28.8	3.1	9.4	1.9	0	5.6	1.3	0	0	3.8	0.6	0	0	0	0
	3	25	38.8	1.3	30	0.6	0	7.5	0	0	0	6.9	0	0	0	0	0
	4	25	13.1	0.6	15	0	0	10.6	0	0	0	3.1	0.6	0	0	0	0
BT-781 500倍	1	100	108.8	5.6	11.9	3.1	40.4	66.4	40	77.3	76	13.8	2.5	76.2	2.8	72.3	59.6
	2	25	27.5	1.3	23.1	2.5	0	8.1	0	0	0	6.9	1.9	0	0	0	0
	3	25	13.8	2.5	11.9	3.1	0	1.9	0	0	0	0.2	0.6	0	0	0	0
	4	25	28.1	1.3	20.6	0.6	0	12.5	0.6	0	0	4.4	0	0	0	0	0
清水 对照	1	100	90.7	5.7	66.7	6.8	-4.8	40.9	26.9	80.8	79.7	13.4	20.5	74.1	4.8	52.5	67
	2	25	17.5	1.3	23.1	4.4	0	5	1.9	0	0	5	3.1	0	0	0	0
	3	25	19.4	0.6	25.6	3.8	0	8.1	2.5	0	0	3.1	3.8	0	0	0	0
	4	25	30	0.6	33.8	0.6	0	13.3	4.4	0	0	3.1	3.7	0	0	0	0
		100	16.3	2.5	25	1.3	-77.3	35	10.1	5.6	-25.4	14.3	14.4	10.1	9.4	0	0

表6 0.55%HA水乳剂防治棉铃虫的河南省新乡县田间试验效果

处 理	重 复	施药前调查				施药后一天残虫				施药后三天残虫				施药后七天残虫							
		卵	虫	虱	总	卵	虫	虱	总	卵	虫	虱	总	卵	虫	虱	总	校正防 效(%)	减 速率 (%)	校正防 效(%)	减 速率 (%)
A	1	1	5	8	0	0	0	3	2	45.5	49.8	0	3	1	45.5	37.2	0	2	63.6	53.1	
	2	0	11	4	0	0	0	2	1	77.3	79.1	0	4	0	63.6	58.1	0	3	72.7	64.0	
	3	3	4	4	1	0	0	2	0	63.0	65.9	0	2	1	66.1	60.9	0	2	66.1	56.3	
	4	2	8	1	0	0	0	3	0	68.8	71.2	2	2	0	77.8	74.4	0	2	79.8	74.0	
B	1	0	5	12	0	0	0	2	0	60.0	63.2	0	2	2	60.0	53.9	0	1	80.0	74.2	
	2	6	8	1	0	0	0	6	2	40.4	45.1	0	3	0	73.7	69.7	0	1	91.5	89.0	
	3	0	9	3	0	0	0	3	0	66.7	69.3	0	3	1	66.7	61.6	0	2	77.8	71.4	
	4	6	3	2	0	0	0	3	0	48.9	52.9	0	3	0	48.9	41.1	0	1	83.1	78.2	
C	1	5	9	11	3	1	1	4	2	52.6	56.4	1	2	1	84.4	82.1	0	1	92.5	90.3	
	2	4	4	3	0	0	0	1	2	66.1	68.8	0	1	1	84.4	82.1	0	1	84.4	79.9	
	3	9	3	3	2	0	0	2	0	74.6	76.6	0	1	0	88.0	86.2	0	1	88.0	84.5	
	4	2	3	7	0	0	0	2	0	50.0	54.0	0	1	0	75.0	71.2	0	0	100.	100.	
D	1	2	0	4	1	0	0	0	2	0.0	7.9	0	0	2	100.	100.	0	0	100.	100.	
	2	0	6	3	0	0	0	1	1	63.3	64.6	0	2	1	66.7	61.6	0	1	83.3	78.5	
	3	3	1	5	0	0	0	2	2	16.7	23.3	0	1	2	56.3	52.0	0	1	58.3	46.3	
	4	2	2	2	1	0	0	2	0	16.7	23.3	0	1	0	66.7	61.6	0	0	100.	100.	
E	1	1	7	3	0	0	0	2	1	73.3	75.4	1	1	1	66.7	84.7	0	0	100.	100.	
	2	0	11	1	0	0	0	1	1	90.9	91.6	0	1	0	90.9	89.5	0	1	90.9	88.3	
	3	1	6	2	0	0	0	1	0	84.6	85.8	0	1	0	84.6	82.3	0	0	100.	100.	
	4	1	5	4	0	0	0	1	0	81.8	83.2	0	1	0	81.8	79.0	0	0	100.	100.	
F	1	3	4	9	2	0	0	6	3	-24.1		1	7	2	-9.4		0	5	27.5		
	2	7	4	3	2	1	1	4	1	-32.4		0	5	1	39.8		0	5	39.8		
	3	0	6	5	0	0	0	6	1	0.0		0	6	1	0.0		0	0	0.0		
	4	0	9	0	0	0	0	7	0	22.2		0	7	0	22.2		0	7	22.2		

A:0.55%HA水乳剂50ml/亩
 B:0.55%HA水乳剂100ml/亩
 C:0.55%HA水乳剂150ml/亩
 D:BT乳剂150ml/亩
 E:20%灭多威乳油50ml/亩
 F:清水对照

附表7 0.28%HA水乳剂防治三代棉铃虫田间药效试验结果

处理	重复	基数(虫数)	施药后(幼虫数)				被害蕾铃数	
			1天	3天	5天	8天	调查数	被害数
0.28%HA水乳剂(150ml/亩)	I	7	2	4	6	8		25
	II	5	3	4	6	7	200	20
	III	4	1	2	3	4		21
40%久效磷乳油(50ml/亩)	I	5	3	4	6	7		32
	II	8	4	6	8	9		20
	III	5	3	4	6	7		20
20%灭多威乳油(50ml/亩)	I	5	2	4	4	5		25
	II	3	2	3	4	5		29
	III	6	2	5	7	8		31
清水对照	I	6	13	31	57	60		70
	II	14	25	39	43	80		88
	III	10	22	35	59	78		67

附表8 0.28%HA水乳剂防治三代棉铃虫田间药效 (防效校正)

序号	处理	施药后一天			三天				五天				八天				相对保 铃率%	
		重覆	II	III	平均	I	II	III	平均	I	II	III	平均	I	II	III		平均
1	0.28%HA 水乳剂 (150 ml / 亩)	85.7	75.0	85.0	81.1	83.7	77.1	85.7	82.2	83.8	77.3	85.8	82.2	84.3	80.8	86.3	83.8	70.6
2	40%久效磷乳 油(50ml / 亩)	70.0	75.0	70.0	71.7	77.1	78.6	77.1	77.6	77.3	81.1	77.3	78.6	81.7	84.6	80.8	82.4	63.5
3	20%灭多威 乳油(50ml / 亩)	71.4	66.7	75.0	71.0	79.6	71.4	76.2	75.7	85.0	74.8	78.0	79.3	86.3	77.2	81.7	81.7	62.2

附表9 0.14%HA水乳剂防治三代棉铃虫田间药效试验结果

处理	重复	基数(虫数)	施药后(幼虫数)				被害蕾铃数	
			1天	3天	5天	8天	调查数	被害数
0.14%HA水乳剂(150ml/亩)	I	6	4	6	8	9		25
	II	5	3	4	6	7	200	18
	III	10	5	8	10	12		35
40%久效磷乳油(50ml/亩)	I	5	3	4	6	7		32
	II	8	4	6	8	9		20
	III	5	3	4	6	7		20
20%灭多威乳油(50ml/亩)	I	5	2	4	4	5		25
	II	3	2	3	4	5		29
	III	6	2	5	7	8		31
清水对照	I	6	13	31	57	60		70
	II	14	25	39	43	80		88
	III	10	22	35	59	78		67

附表10 0.14%HA水乳剂防治三代棉铃虫田间药效 (防效校正)

序号	处理	施药后一天			三天				五天				八天				相对保 铃率,%	
		重覆	II	III	平均	I	II	III	平均	I	II	III	平均	I	II	III		平均
1	0.14%HA水 乳剂 (150 ml/亩)	66.7	70.0	75.0	70.6	71.4	77.1	77.1	75.2	74.8	77.3	81.1	77.7	79.4	80.8	83.6	81.3	64.4
2	40%久效磷乳 油(50ml/ 亩)	70.0	75.0	70.0	71.7	77.1	78.6	77.1	77.6	77.3	81.1	77.3	78.6	81.7	84.6	80.8	82.4	63.5
3	0.20%灭多威乳 油(50ml/ 亩)	71.4	66.7	75.0	71.0	79.6	71.4	76.2	75.7	85.0	74.8	78.0	79.3	86.3	77.0	81.7	81.7	62.2