

农药学

实验原理与方法

任立云/主编



科学出版社

农药学实验原理与方法

任立云 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书基于作者团队的探索与实践,以及农药学在实践教学领域的需求,详细介绍了农药剂型加工、农药生物测定、农药毒力作用机制、有害生物抗药性、农药环境毒理与生物源农药的创制方面的理论基础与实验操作方法。本书在农药生物测定中加入了利用细胞进行毒力测定的内容,在农药作用机制方面加入了作用机制的研究方法,在生物源农药的创制方面叙述了生物源农药的研制理论,并提出相应的研究方法,这些内容的加入使本书更具有时代性。

本书可作为高校农药学专业本科生和研究生教材,也可供从事该领域工作的教学科研人员参阅。

图书在版编目(CIP)数据

农药学实验原理与方法/任立云主编. —北京:科学出版社, 2018.11

ISBN 978-7-03-059393-1

I. ①农… II. ①任… III. ①农药学—实验—高等学校—教材
IV. ①S48-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 252545 号

责任编辑:郭勇斌 肖 雷 / 责任校对:邹慧卿
责任印制:张克忠 / 封面设计:无极书装

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

文林印务有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 11 月第 一 版 开本: 720×1000 1/16

2018 年 11 月第一次印刷 印张: 19

字数: 363 000

定价: 69.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

本书编委会

主 编 任立云（广西大学）

副主编 陈 艳（北京农学院）

贤振华（广西大学）

杨从军（青岛农业大学）

编 委 （按姓氏拼音排序）

廖咏梅（广西大学）

刘志勇（石河子大学）

王海河（中山大学）

余向阳（江苏省农业科学院）

曾东强（广西大学）

前 言

农药学实验是开展各项农药学研究的基础，是对农药学基础理论知识的验证，也是农药学理论知识发现的起点。规范的实验设计和正确的操作方法是取得可靠结果的重要保证。目前绝大多数高等院校都设置有培养农药学专业本科生及研究生的课程，课程讲授范围涵盖了农药剂型加工、农药毒力测定、田间药效、有害生物抗药性及农药毒理等方面，但是缺少一本比较全面的、兼具理论与实践的通用型参考书。为了满足教学与科研的需求，广西大学、青岛农业大学、北京农学院、石河子大学、中山大学和江苏省农业科学院等院校及科研单位的多位长期从事农药学研究工作的教师在已有教材的基础上，汇总近年来先进的研究理论与方法，编写了本书。

本书内容全面，涵盖所有关于农药应用方面的理论与实践知识，并加入现在应用较多的理论与实验方法。与其他的教材相比，本书有以下特点：

第一，去掉了一些陈旧的研究方法，加入了新的实验操作方法、新的农药剂型，使本书更符合当前农药的应用形势；

第二，增加了原理讲解部分，使学生在充分了解实验原理的基础上开展实验，更加理解实验内容。

本书采用实验原理与方法分开编写的方式。在原理篇，主要讲述农药剂型加工、农药室内毒力测定、农药田间药效实验、有害生物抗药性及农药对有益生物的毒性等相关的原理知识；在方法篇，主要讲述农药在上述几部分的实际操作，使学生在掌握理论知识的基础上，清楚实际操作的方法和步骤。

本书编写分工如下：贤振华编写农药剂型加工相关章节，任立云编写杀虫剂毒力测定及作用机制相关章节，陈艳编写杀菌剂毒力测定及作用机制相关章节，杨从军编写除草剂毒力测定及作用机制相关章节，王海河编写昆虫、病原菌和杂草细胞的培养及生物测定相关章节，余向阳编写环境毒理机制及测定相关章节，曾东强编写有害生物抗药性机制相关章节，廖咏梅和刘志勇编写生物源农药的开发利用相关章节。另外，江苏省农业科学院的丁悦、广西大学农学院的谭辉华、唐文伟、刘晓亮、李伟群等多位老师在本书编写过程中提供了诸多帮助，在此一并感谢。

由于作者水平有限，书中难免有疏漏与不妥之处，恳请各位专家批评指正！

编 者

2018年6月

目 录

前言	
实验室规则	1
学生实验室守则	1
实验室安全与防护	1
绪论	3

原 理 篇

1 农药剂型加工	9
1.1 农药助剂种类及应用原理	9
1.1.1 农药助剂的分类	10
1.1.2 常用农药助剂	10
1.1.3 农药助剂在加工和使用中的作用	11
1.2 农药制剂种类及加工	15
1.2.1 粉剂	15
1.2.2 可湿性粉剂	16
1.2.3 乳油	17
1.2.4 悬浮剂	19
1.2.5 粒剂	19
1.2.6 缓释剂	21
1.2.7 水乳剂	22
1.2.8 微乳剂	23
1.2.9 烟剂	24
2 农药室内毒力测定	26
2.1 室内毒力测定的原理与原则	26
2.1.1 室内毒力测定的原理	26
2.1.2 室内毒力测定的原则	27
2.2 室内毒力测定的供试生物	27
2.2.1 活体生物实验材料	27
2.2.2 活体细胞实验材料	47
2.3 室内毒力测定方法	61
2.3.1 杀虫剂毒力测定方法	61
2.3.2 杀菌剂毒力测定方法	71

2.3.3	除草剂毒力测定方法	74
2.4	毒力测定结果的统计与分析	79
2.4.1	农药毒力的常用表示方法	79
2.4.2	数据的采集与统计	80
2.4.3	毒力回归曲线的计算	81
3	农药田间药效试验	96
3.1	农药田间药效试验的设计	96
3.1.1	小区试验设计的基本原则	96
3.1.2	试验设计方法	97
3.2	农药田间药效试验结果的统计分析	104
3.2.1	取样方式	104
3.2.2	统计方法	105
4	农药毒力作用机制	115
4.1	不同农药作用机制概述	115
4.1.1	杀虫剂作用机制	115
4.1.2	杀菌剂作用机制	122
4.1.3	除草剂作用机制	131
4.2	农药作用机制研究方法	135
4.2.1	生物测定	135
4.2.2	组织学观察	136
4.2.3	生理生化研究	136
4.2.4	药剂在体内的分布与受体研究	137
4.2.5	化学方法分析农药在体内的代谢	137
5	有害生物抗药性机制	138
5.1	害虫抗药性机制	138
5.1.1	害虫抗药性产生机制	138
5.1.2	抗药性测定方法	140
5.2	病原菌抗药性机制	146
5.2.1	病原菌抗药性产生的遗传机制	146
5.2.2	病原菌抗药性产生的生化机制	147
5.2.3	抗药性测定方法	148
5.3	杂草抗药性机制	149
5.3.1	杂草抗药性产生机制	149
5.3.2	杂草抗药性测定方法	151
6	农药环境毒理	155
6.1	农药环境毒理作用方式	155
6.1.1	农药对环境高等动物的毒理作用	155
6.1.2	农药对其他有益动物的毒理作用	155
6.1.3	农药对环境微生物的影响	156
6.1.4	农药对作物的影响	156

6.2 农药环境毒理研究方法	156
6.2.1 毒性测定法	156
6.2.2 土壤微生物生物量测定法	158
7 生物源农药的开发利用	161
7.1 生物源农药的分类	161
7.1.1 天然活性物质	161
7.1.2 活体微生物	162
7.2 植物源农药的开发	165
7.2.1 植物源农药活性成分提取	165
7.2.2 植物源农药有效成分的分离和纯化	167
7.2.3 活性成分的研究方法	170
7.3 微生物农药的开发	173
7.3.1 病原微生物的获取	173
7.3.2 病原微生物的致病性试验	176

方 法 篇

8 农药剂型加工方法	179
8.1 粉剂加工方法(以10%硫黄粉剂为例)	179
8.1.1 实验目的	179
8.1.2 有效成分基本知识及原理	179
8.1.3 药品及仪器	180
8.1.4 制备方法	180
8.1.5 质量控制指标	180
8.2 可湿性粉剂加工方法(以15%三唑酮可湿性粉剂为例)	181
8.2.1 实验目的	181
8.2.2 有效成分基本知识及原理	181
8.2.3 药品及仪器	181
8.2.4 制备方法	182
8.2.5 质量控制指标	182
8.3 乳油加工方法(以20%三唑酮乳油为例)	182
8.3.1 实验目的	182
8.3.2 有效成分基本知识及原理	183
8.3.3 药品及仪器	183
8.3.4 制备方法	183
8.3.5 质量控制指标	183
8.4 颗粒剂加工方法(以1.5%辛硫磷颗粒剂为例)	184
8.4.1 实验目的	184
8.4.2 有效成分基本知识及原理	184
8.4.3 药品及仪器	185
8.4.4 制备方法	185
8.5 微乳剂加工方法(以5%阿维菌素微乳剂为例)	186

8.5.1	实验目的	186
8.5.2	有效成分基本知识及原理	186
8.5.3	药品及仪器	187
8.5.4	制备方法	187
8.5.5	质量控制指标	187
8.6	水乳剂加工方法(以5%阿维菌素水乳剂为例)	188
8.6.1	实验目的	188
8.6.2	有效成分基本知识及原理	188
8.6.3	药品及仪器	189
8.6.4	制备方法	189
8.6.5	质量控制指标	189
8.7	烟剂加工方法(以21%百菌清烟剂为例)	190
8.7.1	实验目的	190
8.7.2	有效成分基本知识及原理	190
8.7.3	药品及仪器	191
8.7.4	制备方法	191
8.8	悬浮剂加工方法(以50%氟啶胺悬浮剂为例)	192
8.8.1	实验目的	192
8.8.2	有效成分基本知识及原理	192
8.8.3	药品及仪器	192
8.8.4	制备方法	193
8.8.5	质量控制指标	193
9	农药毒力测定方法	195
9.1	杀虫剂毒力测定	195
9.1.1	胃毒毒力测定方法——夹毒叶片法	195
9.1.2	触杀毒力测定方法——点滴法	197
9.1.3	熏蒸毒力测定方法——锥形瓶法	199
9.1.4	内吸毒力测定方法——连续浸液法	200
9.1.5	忌避毒力测定方法	202
9.1.6	拒食毒力测定方法	204
9.2	杀菌剂毒力测定	205
9.2.1	离体毒力测定方法	205
9.2.2	活体测定杀菌剂毒力方法	211
9.2.3	组织筛选法	217
9.3	除草剂毒力测定	222
9.3.1	平皿法	222
9.3.2	茎叶喷雾法	224
9.3.3	土壤喷雾法	226
9.3.4	小球藻法	228
9.3.5	除草剂混配的联合作用测定	230
10	毒力作用机制测定	233
10.1	杀虫剂毒力作用机制测定	233

10.1.1	胃毒剂毒力作用机制测定	233
10.1.2	杀虫剂对神经元毒性测定	239
10.1.3	杀虫剂对昆虫乙酰胆碱酯酶活性抑制测定	241
10.1.4	杀虫剂对昆虫呼吸毒力等作用机制测定	243
10.1.5	昆虫表皮穿透研究	244
10.2	杀菌剂毒力作用机制测定	246
10.2.1	杀菌剂的作用方式测定	246
10.2.2	杀菌剂的作用机制测定	250
10.3	除草剂毒力作用机制测定	253
10.3.1	除草剂作用症状的观察	253
10.3.2	除草剂诱导电解质漏出的测定	254
10.3.3	除草剂对杂草光合作用影响的测定	255
10.3.4	除草剂对植株体内乙酰乳酸合成酶活性的影响	257
11	田间药效试验方法	259
11.1	杀虫剂防治柑橘树蚜虫田间药效试验	259
11.1.1	试验目的	259
11.1.2	试验条件	259
11.1.3	试验设计和安排	259
11.1.4	结果调查与统计分析	260
11.2	杀菌剂防治茼蒿霜霉病田间药效试验	261
11.2.1	试验目的	261
11.2.2	试验条件	261
11.2.3	试验设计和安排	261
11.2.4	调查、记录和测量方法	262
11.2.5	防治效果计算方法	263
11.2.6	统计分析	263
11.3	除草剂防治花生田杂草田间药效	264
11.3.1	试验目的	264
11.3.2	试验条件	264
11.3.3	试验设计和安排	264
11.3.4	调查、记录和测量方法	266
11.3.5	数据统计与分析	268
12	农药环境毒理测定	269
12.1	农药对蜜蜂毒性测定	269
12.1.1	实验目的	269
12.1.2	实验原理	269
12.1.3	实验材料	269
12.1.4	实验仪器及用具	269
12.1.5	实验步骤	270
12.1.6	结果调查与统计分析	270
12.2	农药对鱼类毒性测定	271
12.2.1	实验目的	271

12.2.2	实验原理	271
12.2.3	实验材料	271
12.2.4	实验仪器及用具	271
12.2.5	实验步骤	272
12.2.6	结果调查与统计分析	272
12.3	农药对家蚕毒性测定	272
12.3.1	实验目的	272
12.3.2	实验原理	273
12.3.3	实验材料	273
12.3.4	实验步骤	273
12.3.5	数据统计与分析	274
12.4	农药对赤眼蜂毒性测定	274
12.4.1	实验目的	274
12.4.2	实验原理	274
12.4.3	实验材料	275
12.4.4	实验步骤	275
12.4.5	数据统计与分析	275
12.5	农药对蚯蚓毒性测定	276
12.5.1	实验目的	276
12.5.2	实验原理	276
12.5.3	实验材料	276
12.5.4	仪器设备	277
12.5.5	实验步骤	277
12.5.6	数据统计与分析	277
12.6	农药在土壤中淋溶及持效性测定	278
12.6.1	实验目的	278
12.6.2	实验材料	278
12.6.3	仪器设备	278
12.6.4	实验步骤	278
12.6.5	数据统计与分析	279
12.7	农药在土壤中对土壤微生物影响测定	279
12.7.1	实验目的	279
12.7.2	实验原理	279
12.7.3	实验材料	280
12.7.4	实验步骤	280
12.7.5	数据统计与分析	280
参考文献		282
附录 1 生物统计机率值换算表		283
附录 2 机率值与权重系数关系表		287

实验室规则

学生实验室守则

1. 参加实验的同学在实验前应认真预习实验指导及相关材料，从而了解实验原理、内容和方法，了解实验中涉及的试剂与药品的毒性及相应的防护措施。
2. 实验开始前，仔细检查实验仪器、用具，齐备后方能开始实验。
3. 实验时必须仔细、认真地观察实验现象，详细记录实验结果，严格遵守操作规程和安全守则，如果出现意外应及时报告老师，以便迅速排除事故。
4. 实验期间遵守课堂纪律，不得随意走动和大声喧哗。
5. 在实验室不得吸烟，食物与饮料不得带入实验室，实验结束后应洗手再离开。
6. 未经允许不准随意将药品带出实验室外，经毒物污染的废物，一律倒入指定污物桶内，不能乱丢。
7. 防止有机溶剂靠近火源，以免引起火灾；使用电插头时，要注意检查所用仪器所需电源电压是否相符，切勿插错。
8. 实验时注意节约药品和材料，按照规定称量取用药品，用完后及时放回原位。
9. 实验期间需着工作服，减少皮肤裸露，如果药品有毒性、刺激性或腐蚀性，应佩戴相应的防护用具；禁止穿拖鞋、背心进入实验室，女生要将长发束起。
10. 实验完毕后应将用具洗净且放回原处，清洁桌面，值日人员将地面打扫干净，将水、电、门窗关好。
11. 实验完毕后及时整理实验数据，编写实验报告。

实验室安全与防护

1. 进入农药学实验室的人员，应熟悉所有的安全防护规则且严格遵守，以防实验人员在实验时受到意外伤害。
2. 实验室内的排水系统和实验室台面需耐火、耐腐蚀，电器设施需符合防火

要求。在实验室内要配备灭火器，实验人员进入实验室首先要熟悉实验室的水阀门、电源总开关、灭火器及其他消防器材的位置。

3. 实验室内不得存放大量易燃品，如苯、汽油、乙醚、醇类、丙酮等，少量保存时须密闭瓶塞，放置冷暗处，远离热源。使用易燃品时，附近不得有明火、电炉和电源开关，更不可用明火或电炉直接加热。

4. 正确取用化学药品。开始实验前应了解所用药品的毒性、理化性质及其防护措施。取用易挥发、毒性化学药品时应在通风橱内进行，同时应佩戴相应的防护用具。若出现中毒症状，应将患者迅速转移到室外通风处。若使用强酸、强碱，注意避免脸部正对容器口，防止液体溅染或腐蚀性烟雾侵染。取用有机溶剂应避免与皮肤接触。

5. 做好实验室的防火、防爆工作。乙醚、乙醇、丙酮、苯等易燃有机溶剂，在取用后应迅速盖上盖子，防止蒸气挥发，引起燃爆。使用酒精灯前，应将酒精灯远离易燃溶剂，使用完毕后随手熄灭。了解灭火器的使用方法。室内如果混合有易燃气体，应保持室内通风良好，同时注意不要使用明火和电源。

6. 称量毒性药品时切勿撒在天平台上，撒在桌上或其他器皿中时，应及时洗掉，不可用手直接接触；使用完的牛角勺等工具应及时用流水冲洗，操作人员要及时洗手。

7. 电力线路发生故障或着火应当立即关闭电源总开关，然后用灭火器喷射，不可用水浇。使用电热仪器时，必须注意导线的绝缘是否良好，一切电热器的外壳必须接有地线。不得用湿手触碰电源开关，不得用湿布擦刀形开关。线路、保险丝发生故障，不得擅自修理，应当由电工进行修理。

绪 论

农药学实验是了解农药及其相关学科的重要手段。不论杀虫剂、杀菌剂、除草剂、杀鼠剂还是植物生长调节剂的研制及应用,都离不开实验研究。我国从 3000 年前就开始探索农药的开发与应用。在未来,农药仍然是人类战胜农作物病虫害的有力武器。很多农药公司都以开发高效、低毒的农药为目标,并十分重视它们对生态环境的影响,至今已开发了多种高效、低毒、选择性强的农药新品种。

在杀虫剂方面,由自然界的天然成分除虫菊酯、沙蚕毒素仿生合成的拟除虫菊酯类、沙蚕毒类杀虫剂,被认为是杀虫剂领域的突破。开发合成的几丁质合成抑制剂、保幼激素、蜕皮激素类昆虫生长调节剂,被认为是“第三代杀虫剂”,代表产品有噻嗪酮、灭幼脲、杀虫隆、伏虫隆、抑食肼、定虫隆、烯虫酯等。后面又出现了被称为“第四代杀虫剂”的昆虫行为调节剂,包括信息素、昆虫拒食剂等。

在杀菌剂方面,抑制麦角甾醇生物合成药剂得到开发,尤其在 20 世纪 80 年代有了长足的发展。目前杀菌剂产品主要有嘧啶类、咪唑类、吗啉类、三唑类、吡唑类和嘧啶类等,它们均为含氮杂环化合物,主要品种有嘧啶灵、丁塞特、十三吗啉、甲嘧醇、咪鲜胺、三唑酮及抑霉唑等。它们均能防治由子囊菌纲、担子菌纲、半知菌纲引起的作物病害,能被植物吸收并在体内传导,对植物体兼具保护和治疗的作用,药效比前期的杀菌剂提高了一个数量级。其中三唑类杀菌剂的开发尤为重要。同时,具有杀菌活性的农用抗生素的开发也十分引人注目,其具有高效、强选择性、易降解等特点,发展十分迅速,主要产品有多抗霉素、有效霉素等。

除草剂的发展是各大类农药中最为突出的,由于农业机械化和农业现代化的推动,使它的应用数量和销售数量雄踞各类农药之首,有效地解决了农业生产中长期存在的草害问题。这些除草剂具有活性高、选择性强、持效适中及易降解等特点。尤其是磺酰脲类和咪唑啉酮类除草剂的开发,可谓是除草剂领域的一大革命。它们通过阻碍支链氨基酸的合成来发挥作用,用量为 $2\sim 50\text{ g/hm}^2$ 。较前期的有机除草剂,药效提高了两个数量级。它们对多种一年生或多年生杂草有效,对人、畜安全,芽前、芽后处理均可。此时期主要除草剂品种有氯磺隆、甲磺隆、阔叶净、禾草灵、吡氟乙草灵、丁硫咪唑酮、灭草嗪、草甘膦等,同时在此阶段

也出现了除草抗生素——双丙氨磷。

鉴于较早开发的部分农药的残毒问题，我国政府禁用了大批残留毒性高的药剂，同时农药剂型、施药技术也正在朝高效、低毒、低残留方向发展。1975年，我国提出了“预防为主，综合防治”的植被保护工作总方针，以达到安全、合理、高效使用农药的目的。但是农民为了更好地控制有害生物，经常发生多施、滥施农药的情况，导致人、畜中毒，有害生物产生抗药性、污染环境及破坏生态平衡等现象还是时有发生。因此，不断探索最佳农药剂型、农药作用机制、最优的作用方式、对环境的影响等将有助于我们更加正确地认识农药，更加高效、合理地使用农药。鉴于以上原因，本书涵盖了以下6个方面。

1. 农药剂型加工

农药厂生产的原药一般不能直接使用，必须经过一定的工艺，按其性质和用途加工成合适的剂型后才能使用。在加工过程中，需要添加一定的助剂才能达到良好的施用效能，如方便施用、提高药效、提高分散性能、降低毒性等。为了使农药达到最佳效能，不同的农药原药，可能需要制成不同的剂型，哪种剂型最合适，需要从各方面去研究农药加工方面的知识，包括农药制剂中添加剂种类和性能、剂型的制作工艺、药效检验等。

2. 农药生物测定

生物测定是用实验的方法来寻找控制有害生物的最佳途径。生物测定的目的是筛选出对有害生物具有较高毒力或药效的药剂种类；研究药剂化学结构与生物活性之间的关系、农药的理化性质及加工剂型与毒效的关系；根据有害生物的生理状态及外界环境条件，确定农药施用水平和施药适期；为提高农药施用效果寻找增效剂，监测有害生物抗药性，监测对植物的药害程度和对恒温动物及有益生物的毒性提供依据。

3. 农药毒力作用机制

任何一种农药都有它的作用方式和作用靶标。如果没有在了解农药自身物理特性和化学特性的基础上，进一步了解农药的作用方式和作用靶标，在使用农药时就会比较盲目，没有做到知己知彼。杀虫剂的作用方式很多，可以通过口腔、气门、体壁进入虫体；作用靶标也很多，可以作用于神经系统的轴突、突触部分，也可以作用于三羧酸循环和电子传递链、肠道围食膜、几丁质的前体物质等。对农药作用机制的认识有助于更好地发挥药剂的优势，同时，了解药剂的作用方式和作用靶标，对于药剂的结构和活性关系会有更深入的理解。

4. 有害生物抗药性的产生及环境问题

随着农药的迅速发展和广泛应用，有害生物逐渐产生抗药性，农民为了保持原有的药效，经常增加药量、增加施药次数，以致农药在田间的持有量大增，产生一系列的环境污染、生态失衡、杀伤天敌等问题，而有害生物的危害会因抗药性的增强越来越严重，形成恶性循环。这就需要研究抗药性在田间产生的范围、程度，以及有害生物解毒机制，为合理制定施药方案、保护生态环境、延长优良药剂使用寿命提供依据。

5. 农药环境毒理

随着农药的施用越来越广泛，它在控制有害生物的危害，减少农产品损失方面起到了至关重要的作用，但同时我们也应看到农药的施用有很多负面影响，如引发人、畜急性中毒或慢性疾病、植物药害、杀伤天敌及有益动物、有害生物再猖獗及农药残留问题等。每一种农药对环境造成的影响不同，它们都有各自的特点，这就需要通过一定的方法去了解其影响，从而有针对性地一一解决，以保证环境与生态安全。

6. 新农药的开发

在自然界中，每一种生物都在不断地变化。繁殖速度快的生物，变化速度快；繁殖速度慢的生物，变化速度慢。这也是生命体对大自然的一种适应。有害生物为了在自然界中更好地生存，会加快对环境的适应速度，尤其在施用大量的、各种各样的农药之后。这就产生了一个新课题：在大多数有害生物对农药产生抗药性之后，如何继续控制这些有害生物？因此，除了以更好的方式应用已有的农药之外，还要加快速度研究新的农药，发现新的农药结构，研制新的农药剂型，发掘新的施用方式，研究新的作用机制和解决新出现的问题。这样才能在控制有害生物方面立于不败之地。

