

学校代码： 10023

学 号： S2012009022

硕 士 学 位 论 文

噻虫嗪对金银花药材质量安全性评价研究

The Evaluation Studies of Thiamethoxam to the Quality Safety of Honeysuckle Herbs

所 院 : 药用植物研究所

姓 名 : 刘亚南

指导教师: 丁万隆 研究员

导师小组: 丁万隆 研究员 李勇 副研究员

学科专业: 中药学

研究方向: 药用植物保护

完成日期: 二零一五年五月

独创性声明



本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。论文中除了特别加以标注和致谢的地方外，不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名：刘亚南 签字日期：2015年 6月 12日

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解 北京协和医学院 有关保存、使用学位论文的管理办法。有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权 北京协和医学院 可以将学位论文的全部或部分内 容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。

(保密的学位论文在解密后适用本授权书)

学位论文作者签名：刘亚南

导师签名：

丁万隆

签字日期：2015年 6月 12日

签字日期：2015年 6月 15日

学位论文作者毕业后去向：

工作单位：北京双鹭药业

电话：18010100125

通讯地址：北京市昌平区昌平科技园利祥路2号

邮编：102299

目录

摘要.....	I
ABSTRACT.....	II
引言.....	III
第一章 文献综述.....	1
1 金银花主要害虫发生为害概述.....	1
1.1 为害金银花常见害虫种类.....	1
1.2 金银花主要害虫发生及为害.....	3
2 噻虫嗪概述.....	6
2.1 农药噻虫嗪.....	7
2.2 噻虫嗪的应用.....	8
3 中药材农药残留研究进展.....	9
3.1 农药残留检测样品前处理技术.....	9
3.2 农药残留检测分析方法.....	11
3.3 小结.....	15
4 中药材生产中农药安全使用标准研究.....	16
5 讨论.....	17
第二章 金银花生产中病虫害发生及农药施用现状调查研究.....	19
1 材料与方法.....	19
1.1 调查地点.....	19
1.2 调查内容.....	19
1.3 数据分析.....	19
2 结果与分析.....	19
2.1 金银花栽培情况的调查.....	20
2.2 金银花病虫害发生情况的调查.....	20
2.3 金银农户农药施用情况的调查.....	21
3 本章小结.....	24
第三章 噻虫嗪防治金银花蚜虫的田间防效评价.....	25
1 材料与方法.....	25
1.1 供试药剂.....	25
1.2 调查对象.....	25
1.3 试验地点.....	25
1.4 试验处理.....	26
2 结果与分析.....	27
2.1 药剂处理对金银花的安全性.....	27

2.2	2013年25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫的防治效果	27
2.3	2014年25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫的防治效果	28
3	本章小结	33
第四章 噻虫嗪在金银花中的残留及降解动态研究		34
1	材料与方法	34
1.1	仪器与药剂	34
1.2	田间试验设计	34
1.3	供试品溶液的制备	35
1.4	高效液相色谱检测方法学考察	35
2	结果与分析	38
2.1	噻虫嗪在金银花中的残留检测结果	38
2.2	噻虫嗪在金银花中的消解动态分析	40
2.3	噻虫嗪在金银花中的最终残留量分析	42
3	本章小结	42
第五章 噻虫嗪对金银花药材指标成分影响的初步研究		44
1	材料与方法	44
1.1	仪器与药剂	44
1.2	田间试验设计	45
1.3	绿原酸含量测定方法学考察	45
1.4	木犀草苷含量测定方法考察	47
2	结果与分析	50
2.1	金银花绿原酸含量测定结果	50
2.2	金银花木犀草苷含量测定结果	53
3	本章小结	55
第六章 结论		58
1.	结论	58
2.	思考与建议	59
参考文献		61
作者简介		69
攻读硕士期间发表论文情况		69
致谢		70
附图		71

摘要

本文对噻虫嗪防治金银花蚜虫的田间防效进行评价，建立其在金银花药材中的残留检测方法，分析其在金银花药材中的消解动态，噻虫嗪对金银花药材有效成分含量的影响，提出了金银花规范化种植中噻虫嗪的安全使用标准建议，为金银花规范化种植中农药安全使用标准的建立提供了科学依据。具体结果如下：

1. 对金银花主产地金银花病虫害发生及农药施用现状进行调查，了解到蚜虫是为害金银花的主要害虫，种植户多使用吡虫啉、噻虫嗪等防治害虫。

2. 噻虫嗪防治金银花蚜虫的田间药效试验结果表明，25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花施用安全，适宜防治金银花蚜虫，且防治效果较好，持效期较长。

3. 建立了金银花药材中噻虫嗪残留分析方法，应用此方法测定了噻虫嗪在金银花中的消解动态和最终残留量，结果表明，噻虫嗪在金银花上的半衰期为 1.54~1.66 d，施药后 7 d，消解达 90%以上，农药噻虫嗪在金银花中的消解速度较快。

4. 初步研究了施用不同剂量噻虫嗪对金银花中绿原酸和木犀草苷含量的影响，结果表明，噻虫嗪对金银花中绿原酸的含量有一定的影响，对木犀草苷的含量没有显著影响。

5. 经国内外研究与本研究结果，建议噻虫嗪在金银花中的最高残留限量值为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，金银花规范化种植中每年施用 25%噻虫嗪水分散粒剂剂量不高于 $135 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ ，喷施 3 次以下，最后一次施药和收获时间的安全间隔期可推荐为 14 d。

关键词：金银花；噻虫嗪；防治效果；消解动态；安全使用标准

ABSTRACT

This article is to evaluate the control effect of thiamethoxam to honeysuckle aphid and establish its pesticide testing methods on honeysuckle herbs. It analyzed its digestion dynamics in honeysuckle herbs, and to study what impact thiamethoxam is for active ingredients of honeysuckle herbs. It put forward the standard recommendation of standardized planting honeysuckle in the safe use of thiamethoxam, and provide a scientific basis for the establishment of standardized planting honeysuckle safe use of pesticides standards. Specific results are as follows:

1. By investigating status quo of the main origin of honeysuckle about honeysuckle pests and diseases and pesticide. Honeysuckle aphid infestation is a major pest, farmers use more imidacloprid, thiamethoxam and others to control pest.

2. The field experiments of thiamethoxam to control honeysuckle aphid showed that 25% thiamethoxam water dispersible granules is security to honeysuckle and appropriate prevention to honeysuckle aphid. It can be better prevention and longer duration.

3. The establishment of residue analysis method thiamethoxam in honeysuckle herbs. Using the method to test degradation dynamic and final residues of thiamethoxam in honeysuckle, which showed that the half-life of thiamethoxam on honeysuckle is 1.54 ~ 1.66d, and after application 7d, thiamethoxam digestion is more than 90% and the digestion speed is faster in honeysuckle.

4. It is the preliminary study of the effects of different doses of thiamethoxam for chlorogenic acid and luteolin content in honeysuckle. Results for two years showed that thiamethoxam have influence on the content of chlorogenic acid content, No significant effect on the content of luteolin.

5. According to domestic research and the results of this study, if the MRLs thiamethoxam in honeysuckle is recommended value of $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, it is recommended 25% thiamethoxam WG dose of $135 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$, spraying three times less every year, and the last interval of spraying and harvest time can be recommended as 14 d in administering standardized planting on honeysuckle.

Key words: honeysuckle (*Lonicerae japonica* Thunb.); thiamethoxam; controlling effect; degradation dynamic; safety standard

引言

随着近年来中医药文化的传播和中医药产业的迅速发展,以及人们对健康和养生的日益关注,中医药各方面的研究不断开展。当今社会面临人口增加,老龄化发展趋势,疾病种类增多等现象,医药市场对中药材需求也逐日递增,促进中药材人工种植产业发展。然而在追求利益最大化的当今社会,中药材质量受到严重威胁。中药材质量安全是影响中药产品质量和药效的关键因素,同时也是制约中药现代化和国际化发展的重要因素之一,因此,中药材安全性研究已经成为国内外中医药研究热点和难点。

2014年底,国际环保组织“绿色和平”发布的《药中药:海外市场中药材农药残留检测报告》称,对美国、英国等七个国家产自中国中药材产品进行抽样检测,发现样品中含有多种农药残留。同仁堂、云南白药、胡庆余堂、天士力等全国九大中药品牌均在其中,从而促使海外市场对我国中药信任危机增强。日前业内认识公认的是,韩国、日本、美国等国外企业直接垄断中成药国际市场约90%的份额,可见,中国在国际中药市场的劣势。在影响中药材安全性众多可控和不可控因素中,中药材农药残留是一个可控因素,也必须是应该受到控制的关键因素。因此,在促进中药材种植业现代化、产业化、规模化、规范化、科学化发展过程中,控制中药材农药残留,发展绿色中药材种植,对我国中药材种植产业具有重要意义,对我国出口药材走向国际市场并占领国际市场具有重大现实意义。

金银花为忍冬科忍冬属植物忍冬(*Lonicerae japonica* Thunb.)的干燥花蕾或带初开的花。味甘性寒,具有清热解毒,疏风散热之功效;用于痈肿疔疮,喉痹,丹毒,热毒血痢,风热感冒,温病发热等。金银花是我国传统大宗中药材,因其独特的药用价值,在“非典”重大突发流行性疾病的防治过程中发挥了重要作用。同时,饮料、食品等领域金银花的用量也是逐年攀升,金银花市场需求量迅猛增长,刺激了金银花种植产业发展。金银花种植中病虫害发生较为严重,而病虫害防治仍以化学防治为主,人们为了追求产量造成药材农药残留超标,因此,也加深了对金银花药材质量安全研究的紧迫性。噻虫嗪由于其独特的杀虫机理和高效低毒防治害虫效果,现已成为防治农作物和中药材害虫常用杀虫剂。随着噻虫嗪广泛使用,国内外学者在噻虫嗪对非靶标生物、害虫天敌、哺乳动物、环境的毒性及其安全性评价方面做了大量工作,但在药用植物安全性方面研究很少报道。

本研究旨在对农药噻虫嗪防治金银花蚜虫的效果进行评价,并且探究其在金银花药材中的残留分析和消解动态,同时初步研究其对金银花有效药用成分绿原酸、木犀草苷的影响,通过以上研究能初步对噻虫嗪在金银花上安全使用标准提出建议,为金银花规范化种植中农药安全使用标准的建立提供了科学依据。

第一章 文献综述

1 金银花主要害虫发生为害概述

金银花为忍冬科忍冬属植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 的干燥花蕾或带初开的花, 味甘, 性寒, 具有清热解毒, 凉散风热等功效, 是我国传统大宗中药材^[1,2]。随着市场对金银花需求的不断增长, 野生栽培量已供不应求, 目前主要以人工栽培为主, 我国金银花产地主要集中在山东、河北和河南三省, 北京、天津、湖南、四川等地也有栽培^[3,4]。近年来, 金银花新老产区种植面积的不断扩大大, 致使病虫害长期积累, 金银花病虫害日益严重^[5,6]。见彩图 1、2。在老产区表现的最为突出, 这也是由于对虫害发生规律认识不清, 规范化管理意识差, 导致盲目滥用高毒、剧毒农药, 致使中药材的安全性得不到保障, 严重影响了金银花的品质和产量^[7]。

1.1 为害金银花常见害虫种类

根据近几年河北^[8]、山东^[9-11]、河南^[12-14]、安徽^[15,16]、湖南^[17]、重庆^[18-20]、广东^[21]、广西^[22]、贵州^[23]等省区金银花病虫害防治相关报道, 为害金银花害虫种类的繁多。根据为害部位, 分为叶部害虫、食花害虫、蛀茎害虫以及根部害虫。叶部害虫有胡萝卜微管蚜、中华忍冬圆尾蚜、棉铃虫、金银花尺蠖、忍冬细蛾、金银花叶蜂、金银花透翅天蛾; 食花害虫有蚜虫、棉铃虫; 蛀茎害虫有咖啡虎天牛; 根部害虫有蛴螬和金针虫等。还有少许储藏期害虫, 如药材甲、烟草窃蠹、锯谷盗和干果粉斑螟^[24], 见表 1。这些害虫分别是昆虫纲同翅目、鳞翅目、鞘翅目、膜翅目、双翅目、半翅目、直翅目和蛛形纲蜱螨目, 共 2 纲 9 目 57 种, 他们分别以若虫、幼虫或者成虫不同程度为害金银花不同部位。

表 1 为害金银花常见害虫种类

Table 1 The common pest species of hazards honeysuckle

学名	目	为害部位	为害虫态	为害程度
中华忍冬圆尾蚜 <i>Amphicercidus sinilonicericola</i> Zhang	同翅目	叶、嫩梢、花蕾	成虫、幼虫	++++
胡萝卜微管蚜 <i>Semiaphis heraclei</i> (Takahashi)	同翅目	叶、嫩梢、花蕾	成虫、幼虫	++++
金银花尺蠖 <i>Heterolocha jinyinhuaphaga</i> Chu	鳞翅目	叶、花蕾	幼虫	+++
咖啡虎天牛 <i>Xylotrechus grayii</i> White	鞘翅目	枝干	成虫、幼虫	+++
铜绿丽金龟 <i>Anomala corpulenta</i> Motschulsky	鞘翅目	根、叶、嫩茎	成虫、幼虫	+++
棉铃虫 <i>Heliothis armigera</i> Hübner	鳞翅目	叶、花蕾	幼虫	+++
朱砂叶螨 <i>Tetranychus cinnbarinus</i> (Boisduval)	蜱螨目	叶	成螨、若螨	+++

金银花叶蜂 <i>Arge similis</i> (Vollenhoven)	膜翅目	叶	幼虫	+++
忍冬细蛾 <i>Phyllonorycter loniceræ</i> (Kumata)	鳞翅目	叶	幼虫	++
豹纹木蠹蛾 <i>Zeuzera Leuconotum</i> Butler	鳞翅目	枝干	幼虫	++
柳干木蠹蛾 <i>Holococerus vicarius</i> (Walker)	鳞翅目	茎干、根	幼虫	++
华北大黑鳃金龟 <i>Holotrichia oblita</i> Fald.	鞘翅目	根	成虫、幼虫	++
黄足黑守瓜 <i>Aulacophora lewisii</i> Baly	鞘翅目	叶、花蕾、嫩梢	成虫、幼虫	++
二斑叶螨 <i>Tetranychus urticae</i> Koch	蜱螨目	叶	成螨	++
花蓟马 <i>Frankliniella intonsa</i> (Trybom)	缨翅目	叶、花蕾	成虫	++
山楂叶螨 <i>Tetranychus viennensis</i> Zacher	蜱螨目	叶	成螨	++
小地老虎 <i>Agrotis ypsilon</i> (Rottemberg)	鳞翅目	根	成虫	++
康氏粉蚧 <i>Pseudococcus comstocki</i> Kuwana	半翅目	叶、枝干	成虫、若虫	+
桃粉蚜 <i>Hyaloptennis arundinis</i> Fabricius	同翅目	叶、嫩梢、花蕾	成虫、幼虫	+
忍冬皱背蚜 <i>Trichosiphonaphi loniceræ</i> Uye	同翅目	叶、嫩梢、花蕾	成虫、幼虫	+
红脊长蝽 <i>Tropidothorax elegans</i>	半翅目	叶、嫩茎	成虫、幼虫	+
麻皮蝽 <i>Erthesina fullo</i> Thunberg	半翅目	叶	成虫、幼虫	+
珠蝽 <i>Rubiconia intermedia</i> Wolff	半翅目	叶	成虫、幼虫	+
二星蝽 <i>Eysacoris guttiger</i> (Thunb.)	半翅目	叶、花蕾	成虫、幼虫	+
珀蝽 <i>Plautia fimbriata</i> (Fabricius)	半翅目	叶	成虫、幼虫	+
绿盲蝽 <i>Lygocoris lucorum</i> (Meyer-Dür.)	半翅目	叶	成虫、幼虫	+
稻棘缘蝽 <i>Cletus punctiger</i> (Dallas)	半翅目	叶、嫩梢	成虫、幼虫	+
烟粉虱 <i>Bemisia tabaci</i>	同翅目	叶	成虫、若虫	+
温室白粉虱 <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood)	同翅目	叶	成虫、若虫	+
暗黑鳃金龟 <i>Holotrichia parallela</i>	鞘翅目	根	成虫、幼虫	+
黄褐丽金龟 <i>Anomala exoleta</i> Faldermann	鞘翅目	根	成虫、幼虫	+
芳香木蠹蛾 <i>Cossus cossus</i> Linnaeus	鳞翅目	茎干	幼虫	+
咖啡木蠹蛾 <i>Zeuzera coffeae</i> Nietne	鳞翅目	嫩梢、嫩枝	幼虫	+
银纹夜蛾 <i>Argyrogramma agnate</i>	鳞翅目	叶、花蕾	幼虫	+
红缘灯蛾 <i>Amsacta lactinea</i>	鳞翅目	叶	幼虫	+
人纹污灯蛾 <i>Spilargia subcarnea</i> Wallker	鳞翅目	叶	幼虫	+
稀点雪灯蛾 <i>Spilosoma urticae</i> Esper	鳞翅目	叶	幼虫	+
忍冬双斜卷蛾 <i>Clepsis rurinana</i>	鳞翅目	叶、花蕾	幼虫	+
斜纹夜蛾 <i>Prodenia litura</i> (Fabricius)	鳞翅目	叶	幼虫	+
红腹白灯蛾 <i>Spilargia subcarnea</i> (Walker)	鳞翅目	叶、花蕾	幼虫	+
黄刺蛾 <i>Cnidocampa flavescens</i> (Walker)	鳞翅目	叶	幼虫	+

褐边绿刺蛾 <i>Latoia consocia</i> Walker	鳞翅目	叶	幼虫	+
中国绿刺蛾 <i>Parasa sinica</i> Moore	鳞翅目	叶	幼虫	+
红带新鹿蛾 <i>Caeneressa rubrozonata</i> Poujade	鳞翅目	叶	幼虫	+
甜菜夜蛾 <i>Laphygma exigua</i> Hubner	鳞翅目	叶	幼虫	+
金银花透翅天蛾 <i>Cephonodes</i> sp.	鳞翅目	叶	幼虫	+
沟金针虫 <i>Pleonomus canaliculatus</i>	鞘翅目	根	成虫、幼虫	+
鸭趾草负泥虫 <i>Lema (lema) diversa</i> Baly	鞘翅目	叶	成虫、幼虫	+
金绿吉丁虫 <i>Lambra bellula</i> Lev.	鞘翅目	叶、枝干	成虫、幼虫	+
泥翅象甲 <i>Sympiezomias citri</i> Chao	鞘翅目	叶、嫩梢	成虫、幼虫	+
柳圆叶甲 <i>Plagiodera versicolora</i> (Laicharting)	鞘翅目	叶、嫩梢	成虫、幼虫	+
褐足角胸叶甲 <i>Basilepta fulvipes</i> (Motschusky)	鞘翅目	叶、嫩梢	成虫、幼虫	+
美洲斑潜蝇 <i>Liriomyza sativae</i> (Blanchard)	双翅目	叶、花蕾	成虫、幼虫	+
干果粉斑螟 <i>Ephestia cautella</i> Walker	鞘翅目	储藏期害虫	幼虫	+
药材甲 <i>Stegobium paniceum</i> Linnaeus	鞘翅目	储藏期害虫	幼虫	+
烟草窃蠹 <i>Lasioderma serricorne</i> Fabricius	鞘翅目	储藏期害虫	幼虫	+
锯谷盗 <i>Oiyzaephilus surinamensis</i> Linnaeus	鞘翅目	储藏期害虫	幼虫	+

注：“+”害虫为害程度。

1.2 金银花主要害虫发生及为害

1.2.1 蚜虫

蚜虫俗称“蜜虫”、“腻虫”，为害金银花的蚜虫主要是中华忍冬圆尾蚜 *Amphicercidus sinilonicericola* Zhang 和胡萝卜微管蚜 *Semiaphis heraclei* (Takahashi)。蚜虫的繁殖能力极强，每年至少发生 10~30 代。以卵在金银花枝条上越冬，早春越冬卵孵化，4~5 月份严重危害金银花，15~25℃时繁殖最快，5~7 月间严重危害伞形花科蔬菜和金银花。10 月间发生有翅雌蚜和雄蚜由伞形花科植物向金银花上迁飞。10~11 月雌、雄蚜交配，并产卵越冬。蚜虫多集中于金银花幼叶背面，主要以成、幼虫刺吸金银花叶片的汁液，使叶片变黄、卷曲和皱缩，花蕾期为害，造成花蕾畸形，严重危害金银花的产量及品质。另外，在为害的过程中蚜虫会分泌蜜露，导致烟煤病发生，影响金银花叶片的正常光合作用^[7,25,26]，见彩图 3、5。

1.2.2 金银花尺蠖

金银花尺蠖 *Heterolocha jinyinhuaphaga* Chu 属鳞翅目尺蛾科。根据不同产地平均每年发生 3~4 代，以幼虫和蛹在土表或枯叶下越冬。越冬蛹一般在 4 月上旬开始羽化，

4月中旬为羽化盛期，一、二、三代成虫羽化盛期分别在5月下旬至6月上旬、7月上中旬、9月上中旬。成虫多在傍晚羽化，当夜即可交配产卵，卵期7~10d。卵分散或成块产于叶片背面或嫩茎上，初孵幼虫爬行迅速，或吐丝下垂，借风传播。尺蠖一般在头茬采收完毕时危害严重。主要是初龄幼虫在叶背危害，取食下表皮及叶肉组织，残留上表皮，使叶面呈白色透明斑，从三龄开始蚕食叶片，造成叶片出现不规则缺刻或孔洞，五龄幼虫进入暴食阶段，为害严重时可将金银花叶片和花蕾全部吃光，因此，防治应在三龄之前。尺蠖的幼虫为寡食性害虫，只取食忍冬科植物的叶片，是金银花为害严重的食叶害虫，幼虫取食叶片，影响花芽分化，造成金银花严重减产^[9,27,28]。

1.2.3 咖啡虎天牛

咖啡虎天牛 *Xylotrechus grayii* White 属于鞘翅目天牛科，是药用植物金银花的主要蛀干害虫。每年发生1代，以幼虫和成虫寄主枝干内越冬，以成虫占多数。每年4~5月当平均气温达15℃以上时，越冬成虫咬破枝干表皮，开始出孔活动并且产卵，4月下旬至5月上旬为出孔盛期，7~8月为危害最盛，8月下旬后成虫陆续羽化越冬。成虫出孔后即交配，交配后次日即可产卵，每雌虫可产卵38~95粒。以成虫和幼虫蛀食枝干，先在表皮下面危害，逐渐向木质部蛀食，使受害枝条枯萎，蛀孔内充满木屑和虫粪，造成主干或主枝枯死，植株受害后，逐渐衰老枯萎乃至死亡^[29,30]。

1.2.4 棉铃虫

棉铃虫 *Heliothis armigera* Hübner 属鳞翅目夜蛾科，1年发生4代，以蛹在土壤内越冬，4月下旬至5月中旬，越冬代成虫羽化，第一代幼虫盛发期在5月下旬至6月上旬，6月下旬至7月中旬为第二代幼虫危害期，8月上中旬、9月上中旬分别为三、四代棉铃虫幼虫危害期，9月下旬开始陆续进入越冬。该虫的高发期集中在金银花的花期，即5月中旬、6月中旬及8月份金银花花蕾期，主要取食金银花花蕾以及金银花的幼嫩叶片。每头棉铃虫幼虫一生可咬食几十个甚至上百个花蕾，初龄幼虫钻蛀金银花幼蕾头部，形成孔洞，花蕾被棉铃虫幼虫咬食后，不仅品质下降，而且容易脱落，为害心叶和嫩叶上表皮形成孔洞或缺刻，大龄幼虫蛀食大的花蕾，取食花药部分，而失去商品价值，还为害嫩叶，直接造成产量损失^[18]。

1.2.5 蛴螬

蛴螬是鞘翅目金龟子幼虫的总称，常见的种类包括铜绿丽金龟 *Anomala corpulenta* Motschulsky，华北大黑鳃金龟 *Holotrichia oblita* Fald.，暗黑鳃金龟 *Holotrichia parallela*，黄褐丽金龟 *Anomala exoleta* Faldermann 等。其中以铜绿丽金龟为主要种类，其次是华北大黑鳃金龟、暗黑鳃金龟、黄褐异丽金龟等。铜绿异丽金龟1年1代，以幼虫越冬。春季10 cm 土温高于6℃时，越冬幼虫开始活动，3~5月是一个危害小高峰，5月下旬~6月下旬化蛹，6月上旬为蛹盛期，成虫开始出现在6月上旬，盛期为6月中下旬至7月上旬，7月中下旬为卵孵化盛期，孵化幼虫为害至10

月中下旬,当 10 cm 土温低于 10℃时,开始下潜越冬。蛴螬是金银花主要的根部害虫,主要咬食金银花根系,造成植株营养不良并且衰退,为害严重时须根全部吃光,使植株枯萎而死,成虫则以花、叶为食,严重影响金银花的产量和品质^[31,32]。

1.2.6 红蜘蛛

红蜘蛛,又名棉红蜘蛛,俗称大蜘蛛、大龙、砂龙等,学名叶螨,属蛛形纲、蜱螨目、叶螨科。为害金银花的种类以朱砂叶螨 *Tetranychus cinnbarinus* (Boisduval)为主,还有二斑叶螨 *Tetranychus urticae* Koch。红蜘蛛每年可繁殖 13 代,以卵越冬,越冬卵一般在 3 月初开始孵化,5~6 月高温干燥气候有利红蜘蛛繁殖。红蜘蛛多集中于叶片背面吸取汁液,以口器刺入叶片内吮吸汁液为害,使叶绿素受到破坏,叶片出现灰黄色斑点,叶片枯黄、脱落。被害叶初期红黄色,后期严重时则全叶干枯,严重影响金银花树势、产量和品质。该虫害繁殖力很强,受它危害的药用植物也很多,除金银花外还有三七、当归、地黄、枳壳、红花、川芎等。红蜘蛛的卵多产于叶背中脉两侧,有趋嫩性,当新梢展叶后,大量虫口向新梢迁移危害,此时及时防治是保护植株的有效措施^[21,31]。

1.2.7 金银花叶蜂

金银花叶蜂 *Arge similis* (Vollenhoven)属膜翅目叶蜂科,寡食性,只为害金银花,见彩图 4,该虫以老熟幼虫在土壤和枯叶中结茧化蛹的方式越冬。1 年发生 5 代,以第 1 代和第 2 代幼虫危害最为严重,初孵幼虫喜爬到嫩叶上取食,从叶的边缘向内吃成整齐的缺刻,全叶吃光后再转至邻近叶片。严重发生时,可将全株叶片吃光,使植株不能开花,影响当年金银花的产量,并使次年发叶较晚,受害枝条枯死。幼虫老熟后沿植株下爬,进入 0.5~1 cm 深的土层或枯叶中吐丝结茧,卷缩其中化蛹。次年 3 月上旬成虫羽化,取食花蜜和蚜虫分泌的蜜露。成虫晴天活动,阴雨天栖息在枝叶下不动。成虫活动 3~4 d 后开始产卵,产卵时雌虫用锯齿状产卵器割开叶面边缘的表皮,将 1~3 粒卵产于表皮下,产卵处的叶边缘组织变成水浸状,后变为黑褐色。成虫飞到有蚜虫的地方取食蚜虫分泌蜜露为生,产卵时,雌虫能用其锯齿状产卵器割开金银花的叶面边缘的表皮进行产卵。该虫主要取食金银花嫩叶,食量特别大,危害最严重时能将整株金银花吃光,严重影响金银花产量^[21,33]。

1.2.8 忍冬细蛾

忍冬细蛾 *Phyllonorycter lonicerae* (Kumata)属鳞翅目细蛾科,每年可发生 4 代,以老熟幼虫在金银花老叶内部越冬,4 月中下旬化蛹,4 月下旬至 5 月上旬羽化为成虫。5 月上中旬、6 月下旬至 7 月上旬、8 月中下旬、9 月下旬至 10 月上旬分别为一、二、三、四代幼虫盛期,是为害高峰。该虫在四季花上发生特别严重,危害最重时一片金银花叶片上能有 4~7 个虫斑。该虫潜入金银花叶片叶下表皮危害金银花,能形成大小不一的、白色囊状椭圆形的虫斑,取食金银花叶片的叶内组织,虽然叶正面正常,

但叶下表皮的叶内组织被破坏并且充满黑色虫粪，使叶片向背面弯折、失水皱缩，导致造成叶片枯焦、脱落、不能进行光合作用，最终严重影响金银花的树势和产量^[12,14]。

1.2.9 柳干木蠹蛾

柳干木蠹蛾 *Holcocerus vicarius* (Walker) 属鳞翅目木蠹蛾科，又称柳乌木蠹蛾，2年发生1代，跨越三年，以低、中龄幼虫在被害植株茎秆基部或根内越冬。幼虫4月份开始活动取食，9~10月接近老熟，钻入木质部进行越冬。第2年4月中旬老熟幼虫脱离寄主入土做茧化蛹，5月下旬开始羽化为成虫，6~7月为羽化盛期，成虫当晚交配，次日产卵。每头雌蛾一生能产卵160~750粒。该虫主要蛀食金银花的茎干，成虫产卵于老茎中下部，幼虫孵化后沿韧皮部向下迁移，进入木质部取食，使茎干中空，严重破坏植株的生理功能，阻碍植株养分和水分的疏导，导致金银花枝条叶片变黄、脱落，严重时金银花全株枯死。可以根据幼虫大多从旧孔蛀入危害衰弱花墩的习性进行防治处理^[10,34,35]。

1.2.10 豹纹木蠹蛾

豹纹木蠹蛾 *Zeuzera Leuconotum* Butler 属鳞翅目木蠹蛾科，1年发生1代，越冬幼虫次年4月上旬开始活动、取食，5月底为化蛹盛期，6月上旬开始羽化成虫，7月上中旬为幼虫孵化盛期，7月下旬为幼虫盛期，11月幼虫停止取食，90%以上的高龄幼虫在寄主金银花下部茎秆内，少数在根部，进入越冬期。主要为害金银花的枝条。幼虫多自枝桠或嫩梢的叶腋处蛀入，向上蛀食，受害新梢很快枯萎，幼虫以后向下转移，再次蛀入嫩枝内，继续向下蛀食，被害枝条内部被咬成孔洞，孔壁光滑而直，内无粪便。^[10,34,36]

2 噻虫嗪概述

噻虫嗪 (thiamethoxam) 是新烟碱类杀虫剂第2代的第1个代表化合物，不仅具有触杀、胃毒、内吸活性，而且具有更高的活性、更好的安全性、更广的杀虫谱及作用速度快、持效期长等特点，是取代那些对哺乳动物毒性高、有残留和环境问题的有机磷、氨基甲酸酯、有机氯类杀虫剂的较好品种^[37,38]。对鞘翅目、双翅目、鳞翅目，尤其是同翅目害虫有高活性，可有效防治各种蚜虫^[39-41]、叶蝉^[42]、飞虱类^[43,44]、粉虱^[45]、金龟子幼虫^[46]、马铃薯甲虫^[47]、蓟马^[48]等害虫及结多种类型化学农药产生抗性的害虫。与吡虫啉、啉虫脒、烯啶虫胺无交互抗性。既可用于茎叶处理、种子处理，也可用于土壤处理，被广泛应用于农业和畜牧业。

该产品于1998年上市以来，至今已在25个国家登记认可，主要是在拉丁美洲、东欧和亚洲，销售额逐年上升，2003年2.15亿美元，2005年3.59亿美元，2007年4.55亿美元，在杀虫剂中位居第二位，仅次于吡虫啉。该试剂自从在我国登记上市以来，到2014年登记噻虫嗪原药产品国内企业达到27家，其中江苏省8家，山东省、

河北省各 5 家，湖南省、四川省各 2 家，辽宁省、安徽省、天津市、上海市、浙江省各 1 家。

2.1 农药噻虫嗪

2.1.1 噻虫嗪开发历史

新烟碱类化合物代表了一类新型的、独特的化学及生物特性的化学杀虫剂。壳牌的研究者 1972 年最早介绍了一些结构简单的硝甲基杂环化合物的杀虫特性，并引出了一种作物保护剂化合物 nithiazine，但并未商品化。该化合物具有新烟碱类化合物的先导结构。13 年后，随着吡虫啉的合成，日本农药株式会社(现为日本拜耳)在这个领域获得了重要突破。其通过引入 6-氯吡啶-3-甲基作为硝甲基杂环的取代基，可对稻田叶蝉的杀虫活性提高 100 倍以上。1985 年首次发表了专利，这些引发了许多公司对此类化合物的研究。Ciba 公司(1996 年后为诺华，现为先正达公司)、日本武田、日本曹达、Agro Kanesho、日本三井化学公司和其他公司均很快进入这个领域的研究^[49-51]。

噻虫嗪 thiamethoxam 于 1991 年开发，1997 年由瑞士诺华(现先正达)公司推出上市。Ciba 公司 1985 年起从事新烟碱类化合物的研究开发，曾先后合成了脂肪族硝基胺、脂肪族硝基胍、脂肪族氰基胍、3-杂环基甲基-2-硝甲基-吡咯、异噁唑和新型硝基杂环类，如 4-硝基亚胺基-1,3,5-噁二嗪等类化合物。从中发现了 4-硝基亚胺基-1,3,5-噁二嗪类具有独特的化学和生物特性。噻虫嗪为这类新颖化合物中最具代表性的一个，进而在全世界范围予以开发。它是第二代新烟碱类化合物的第一个代表例子，属于噻烟碱类化合物的亚型^[49-51]。现代信息报道了这个化合物，可作为叶面和土壤处理的商品名为 Actara，而作为种子处理的商品名为 Cruiser。

随着对噻虫嗪大量的研究和应用，进行了大量的试验和推广，不断将该药的应用深度和广度向前推进，至今噻虫嗪已在 40 多个国家的 30 多种作物上使用。噻虫嗪早在 2001 年就在我国登记上市，到目前开发出的商品名有阿克泰、锐胜、快胜、福戈、翠剑、大功牛、五扫、挂帅、激增等，产品剂型有水分散粒剂、片剂、乳油、种衣剂、湿拌种剂、液剂、粉剂、悬浮剂等。

2.1.2 噻虫嗪杀虫机理

噻虫嗪化学名称为 3-(2-氯-1,3-噁唑-5-基甲基)-5-甲基-1,3,5-二嗪-4-基叉(硝基)胺，分子式为 $C_8H_{11}ClN_5O_3S$ ，分子量为 291.72，化学结构式(图 1)。噻虫嗪在水中溶解度相对较高，分配系数小，通过植物体内的木质部向上输送到植株体各部，有很强的叶片传导活性和根部内吸性，内吸活性特别突出，杀虫谱广且持效期长^[52,53]。

噻虫嗪主要作用于昆虫的中枢神经系统，是烟碱型乙酰胆碱受体(Nicotine

Acetylcholine Receptors, nAChRs) 的抑制剂^[54,55]。由于昆虫的 nAChRs 与脊椎动物的 nAChRs 具有一定的结构差异, 新烟碱类药剂的重要特征是含有=NNO₂、=NCN 和=C(H)NO₂ 等功能基团, 其位点主要在昆虫 nAChRs 的 α 亚基和 β 亚基的界面区域, 因此, 新烟碱类杀虫剂中的药效基团(=N-NO₂) 对昆虫 nAChRs 具有更高的亲和力, 从而导致了其对害虫高效, 而对高等动物低毒的高选择性。噻虫嗪的药效基团是硝基亚胺, 在其结构中, 在 R1 和 R2 之间插入的 O 原子, 以及在 5 位 N 原子上引入的甲基, 均提高了噻虫嗪对刺吸式害虫的活性; 其杂环部分为 2-氯-1,3-噻唑-5-基(CTM), 该结构的引入提高了噻虫嗪对咀嚼式口器害虫的杀虫活性^[56,57]。吡虫啉和噻虫嗪分别是具有氯吡啶结构和氯噻唑结构, 二者在结构上的差异, 提高了噻虫嗪对刺吸式和咀嚼式口器害虫的触杀及胃毒活性, 其对刺吸式口器害虫的活性与吡虫啉相当或高于吡虫啉, 对一些鳞翅目害虫的活性则高于吡虫啉。

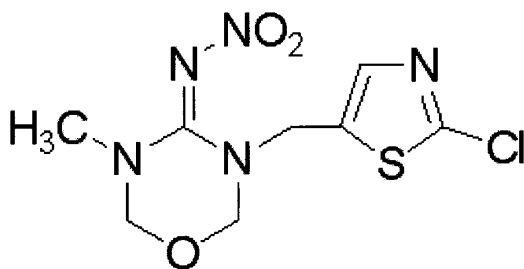


图 1 噻虫嗪 thiamethoxam 结构式

Fig.1 Structural formula of thiamethoxam

2.2 噻虫嗪的应用

噻虫嗪应用范围涉及烟草、果树、蔬菜、茶叶、棉花、水稻、小麦等粮食作物, 还有部分药用植物, 防治对象涉及同翅目、鳞翅目、双翅目、鞘翅目、半翅目、缨翅目等 7 个目的 60 多种害虫。近年来的一些研究报道, 噻虫嗪已被广泛用于西红柿蚜虫^[39]、水稻蚜虫^[40]、紫花苜蓿叶蝉^[42]、马铃薯甲虫^[47]、烟粉虱^[58,59]、苹果黄蚜^[45]、杭白菊蚜虫^[41]等害虫的防治。噻虫嗪有 25%噻虫嗪水分散粒剂、5%噻虫嗪水乳剂、70%噻虫嗪可分散粉剂、35%噻虫嗪悬浮种衣剂等多种剂型, 其中水分散粒剂是在可湿性粉剂和悬浮剂的基础上发展起来的新剂型, 其具有分散性好、悬浮率高、稳定性强、使用方便等优点^[43,44,47]。噻虫嗪用药方式多样, 可通过拌种、单叶浸药、涂茎、灌根等方式防治马铃薯甲虫、烟粉虱等害虫^[47,60,59], 喷雾是防治金银花蚜虫的最佳手段。

3 中药材农药残留研究进展

农药残留 (pesticide residues) 是指由于农药的应用而残存于生物体、农产品和环境中的农药亲体及其具有毒理学意义的杂质、代谢转化产物和反应物等所有衍生物的总称。农药杂质包括无效异构体和农药合成过程中产生的有害产物, 如有机氯杀虫剂六六六和滴滴涕的异构体, 2,4,5-涕的杂质四氯代二苯并二噁英 (TCDD); 降解、代谢产物如对硫磷的氧化产物对氧磷、代森类杀菌剂的降解产物乙撑硫脲等^[61]。

中药以其是一种具有防病、治病以及保健功效的特殊农产品的优点, 深受广大人民群众喜爱和关注。然而, 从上世纪 80 年代初, 农药的广泛使用给中药材带来严重影响, 农药残留不但导致中药材质量下降, 同时危害人体健康, 因此出现了所谓的“药中药”, 农药残留含量作为中药材质量控制的一项重要指标^[62,63]。因此, 中药材农药残留的样品处理与检测技术也得到快速的发展与创新。

3.1 农药残留检测样品前处理技术

前处理的主要目的是要尽可能完全地提取出其中的待测组分, 同时还要尽可能地除去存在的杂质, 减少或降低对检测结果的干扰。其过程重点是提取与净化: 提取是通过选择合适的溶剂和提取方法, 将待测物从固态样品中转为易于净化和分析的液态; 净化是通过选择适当的方法将待测物与其他干扰物质分离^[64]。

传统的提取方法主要是匀浆法、振荡法、索式抽提法等, 传统的净化方法主要是磺化法、液-液分配、吸附柱层析法、凝结沉淀法等^[65,66]。近年来, 针对传统样品前处理方法存在处理时间长、试剂消耗多等缺点, 一些新的样品前处理技术不断引入到农药残留分析中。目前已取得广泛应用的新技术, 不仅试剂消耗少, 而且操作方便, 提取与净化的效果也很明显。

3.1.1 提取技术

3.1.1.1 超声波提取

超声波提取通过对有机溶剂产生高频率的声波产生机械作用、空化作用以及热作用, 将样品中的残留农药提取出来^[67,68]。万益群等^[69]采用超声波辅助溶剂提取法白术中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留量测定, 取得较好的结果。

3.1.1.2 微波辅助萃取

微波辅助萃取利用微波加热样品, 在此作用下极性分子迅速吸收能量加热极性溶剂, 萃取样品中目标化合物^[67]。李雪梅等^[70]采用微波辅助萃取测定中药材中有机氯农药, 萃取回收率在 85%~117%, 相对标准偏差为 3.4%~6.1%。

3.1.1.3 超临界流体萃取

超临界流体萃取 (Supercritical Fluid Extraction, SFE) 是国际上最先进的物理萃取技术, 简称 SFE。在较低温度下, 不断增加气体压力时, 气体会转化成液体, 当温度增高时, 液体的体积增大, 对于某一特定物质而言总存在一个临界温度 (TC) 和临界压力 (PC), 高于临界温度和临界压力后, 物质不会成为液体或气体, 这一点就是临界点。在临界点以上的范围内, 物质状态处于气体和液体之间, 这个范围之内的流体成为超临界流体 (SF)。超临界流体具有类似气体的较强穿透力和类似液体的较大密度和溶解度, 具有良好的溶剂特性, 可作为溶剂进行萃取、分离单体。目前最常用的超临界流体为 CO_2 , 无毒, 环境友好, 其分子极性比较小, 可用于提取非极性或弱极性农药残留, 同时也可以加入适量极性调节剂, 可最大限度地提取不同极性的农药残留而最低限度的减少杂质提取。SFE 具有提取效率高, 速度快, 节省大量有机溶剂, 容易实现操作自动化等优点。目前已逐步应用于中药中农药残留分析^[71]。

3.1.1.4 基体分散固相萃取

基体分散固相萃取 (matrix solid-phase dispersion, MSPD) 是美国 Louisiana 州立大学的 Barker 教授在 1989 年提出并给予理论解释的一种快速样品处理技术。其原理是将涂渍有 C18 等多种聚合物的单体固相萃取材料与样品一起研磨, 得到半干状态的混合物并将其作为填料装柱, 然后用不同的溶剂淋洗柱子, 将各种待测物洗脱下来。其优点是浓缩了传统的样品前处理中的样品匀化、组织细胞裂解、提取、净化等过程, 不需要进行组织匀浆、沉淀、离心、pH 调节和样品转移等操作步骤, 避免了样品的损失。它是一种简单高效实际的提取净化方法, 适用于各种分子结构和极性农药残留的提取净化, 提高了分析速度、减少了试剂用量、适于自动化分析。影响 MSPD 效果的因素包括吸附剂的粒径, 样品基质的性质及基质的修饰, 淋洗剂的性质及加入的顺序等。Kristenson 等的发展了一种简单快速的 mspd/gc-ms 方法测定水果中的氯菊酯和对硫磷, 马拉硫磷等 10 种有机磷农药残留量, 选择 C_8 作为吸附剂, 每次分析仅需 25 mg 样品和 100 mL 溶剂^[72]。

3.1.1.5 加速溶剂萃取

加速溶剂萃取 (ASE) 是在提高的温度和压力下用溶剂萃取固体或半固体样品的新颖样品前处理方法^[73]。ASE 的主要影响因素是压力和温度。提高温度, 有利于提高溶质的溶解能力, 加速溶剂分子向基体中的扩散; 提高提取效率及速度。提高压力, 使溶剂在其沸点以上时仍保持液态, 还能有利于溶剂进入低压时基质内封闭的微孔。ASE 适用领域宽, 速度快, 使用溶剂少, 提取效率高, 自动化程度高, 便于实验方法开发, 拥有兼容一定浓度酸碱的惰性流路系统。ASE 几乎可以使用所有传统溶剂。一个典型的加速溶剂萃取过程, 10 g 样品仅用大约 15 mL 溶剂, 从装样到完成提取仅需 15 min。从 ASE 出来的样品已经经过过滤, 更方便于下一步的实验。

3.1.2 净化技术

3.1.2.1 固相萃取

固相萃取的原理是利用固体吸附剂将样品的目标化合物吸附，与样品的基体和干扰化合物分离，然后在用洗脱液洗脱或加热吸附，达到分离和富集的目的。与吸附柱层析法相比，因采用高效高选择的吸附剂，且装填紧密，所以取得更好的净化效果^[74]。在这个过程中，不大量使用不互溶溶剂，不产生乳化现象，简化了样品处理过程，大大降低溶剂用量。固相萃取是目前在农药残留分析中广泛使用的前处理方法。

3.1.2.2 固相微萃取

固相萃取技术上发展起来的一种微萃取分离技术，是一种集采样、萃取、浓缩和进样于一体的无溶剂样品微萃取新技术。与固相萃取技术相比，固相微萃取操作更简单，携带更方便，操作费用也更加低廉；另外克服了固相萃取回收率低、吸附剂孔道易堵塞的缺点^[75]。

3.1.2.3 凝胶渗透色谱

凝胶渗透色谱于 1964 年由 J.C.Moore 首先研究成功，也称为体积排除色谱，分子量大小不同的被分离物质通过具有分子筛性质的固定相，使物质达到分离^[76]。其固定相为多孔性微球，可由交联度很高的聚苯乙烯、聚丙烯酰胺、琼脂糖和葡萄糖的凝胶以及多孔玻璃、多孔硅胶来制备。李樱等^[77]用乙酸乙酯提取，凝胶渗透色谱净化-气相色谱-电子捕获检测器检测，对糙米中 35 种有机氯、拟除虫菊酯农药和多氯联苯进行测定，加样回收率在 70.1%~109.9%，相对标准偏差 RSD 为 2.3%~13.3%。该方法回收率、精密度均符合农药多残留测定。盛静等^[78]采用乙腈提取、凝胶渗透色谱净化、气相色谱-质谱联用法检测杭白菊中 32 种残留农药，该方法回收率在 68.4%~99.0%，RSD 为 1.3%~10.3%。

3.1.2.4 QuEChERS

QuEChERS (Quick、Easy、Cheap、Rugged、Safe)，是近年来国际上最新发展起来的一种用于农产品检测的快速样品前处理技术，由美国农业部 Anastassiades 教授等于 2003 年开发的^[79]。该方法的主要步骤是用含 1%醋酸的乙腈对样品进行浸提，再加入无水硫酸镁与醋酸钠振荡促使其分层，随后进行分散固相萃取，即将浸提液转移至含有 PSA 吸附剂、硫酸镁的离心管中，运用 Teflon 涂层离心管进行离心，取离心液至自动进样瓶用于 GC/MS 或 LC/MS 进行测定，并对其稳定性和可靠性进行了分析和评价。同时本方法也可根据可供选择的分析仪器种类、检测限、靶标农药的范围以及使用介质的差异进行适当调整。QuEChERS 法是农药多残留分析中的一种简便、快速、安全、价格低廉的分析方法^[80,81]。

3.2 农药残留检测分析方法

3.2.1 薄层色谱法

以固体吸附剂(如硅胶、氧化铝等)为载体,水为固定相溶剂,流动相一般为有机溶剂所组成的分配型色谱分离分析方法。该方法简单、快速、直观,不需要特殊设备,可同时分析多个样品,但灵敏度较低,近年来使用较少,现经常与其他技术联用,对样品被分离的一种或多种成分进行定性定量分析。如胡秋菊等^[82]采用环己烷-丙酮-氯仿(5:1:1)作为展开剂,运用薄层色谱-荧光测定法对中药材中西维因残留进行了研究,回收率在 80%~111%。

3.2.2 液相色谱法 (LC)

该方法为农药残留检测中不可缺少的重要方法,具有分离速度快、检测效率高、重复性好的特点,主要分离检测极性较强、相对分子质量大的离子型农药,尤其对不易气化或受热易分解的农药更能显示出其突出优点,但它在分析组分比较复杂的样品时,选择性和灵敏度不如气相色谱好。孙丽华等^[83]建立一种用反相离子对 HPLC 测定中药材中苯并咪唑农药残留量的分析方法。样品经乙腈萃取后盐析,PSA 净化,癸烷磺酸钠离子对试剂处理后,用 HPLC-DAD 分离测定,外标法定量。本方法的最低检出质量浓度分别是:多菌灵 $0.07 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 甲基硫菌灵 $0.09 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 2-氨基苯并咪唑 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。样品回收率>50%,精密度 RSD<13%。

3.2.3 气相色谱法 (GC)

GC 具有操作简便、分析速度快、分离效能高、灵敏度高、应用范围广及可以同时分离分析多种组分等优点,广泛的用于相对分子质量较小,易气化,气化后又不发生分解的农药残留的分析,如有机氯、有机磷、拟除虫菊酯等。Zhao 等^[84]采用 GC 测定中药当归中有机氯农药 PCNB, PCA, DDE 等残留,回收率为 82.41%~98.12%。万益群等^[85]采用 GC-FPD 方法测定栀子中有机磷农药残留时,方法检出限为 $0.011\sim 0.015 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,回收率为 85.5%~107.8%。

3.2.4 液相色谱-质谱联用技术 (LC-MS)

将液相色谱与质谱串联成为一个整机使用的检测技术。现以电喷雾离子源和大气压化学电离源等接口技术将液相色谱和质谱连接起来,已成功地用于分析对热不稳定,相对分子质量较大,难以用气相色谱分析的化合物检测,具有检测灵敏度高、选择性好、定性定量同时进行、结果可靠等优点。LC-MS 对简单样品可进行分析前净化,并具有几乎通用的多残留组分分析能力,是一种很有利用价值的高效率、高可靠性分析技术。Jansson 等^[86]采用液相色谱-质谱方法分析水果和蔬菜中 57 种农药残留,回收率在 70%~100%。吴永江等^[87]应用液-质联用的方法对铁皮石斛和西洋参制剂中的多菌灵残留进行分析,平均回收率在 95.6%以上。

3.2.5 气相色谱-质谱联用 (GC-MS)

气相色谱法用于中药材中农残分析时常用的检测器是氮磷检测器(NPD)、电子捕获检测器(ECD)、火焰光度检测器(FPD)和质谱检测器(MSD),前 3 种检测器选择性好,

但无法同时检测多类农药,而且不能确证残留农药的结构。质谱具有很强的定性能力,而且采用选择离子检测模式可以排除基质的干扰,进一步提高检测的灵敏度,用于农药残留量检测工作,特别是应用于农药代谢物、降解物的检测和多残留检测等具有突出的特点,适用于挥发和半挥发性有机杀虫剂、除草剂等农药的残留分析,主要包括有机氯类、有机磷类、有机氮类、氨基甲酸酯类等化合物。Hengel 等^[88]采用 GC-MS 法对蛇麻花中杀菌剂百菌清残留进行测定,4 个添加浓度的回收率为 79%~103%。吴永江等^[89]采用气相色谱-质谱联用技术检测中药材中有机氯、有机磷及拟除虫菊酯等 16 种农药残留量,回收率在 70.5%~105.0%之间,相对标准偏差小于 10.9%

3.2.6 毛细管电泳 (CE) 和毛细管区带电泳 (CZE)

CE 和 CZE 特别适合分离常规液相色谱难以分离的离子性化合物。CE 具有操作简单、分析速度快、运行成本低、柱高效的特点。CZE 分离效率高,操作简便,具有很大灵活性,对许多分离参数,如缓冲液的组成和 pH 值、毛细管的类型以及使用的电场波形等都可以调节,其测定所需样品量极少,一般只需几毫升。黄宝美等^[90]建立了一种毛细管电泳法检测青菜中有机磷农药敌百虫的方法,最低检出限为 $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,回收率为 90%~102%。Frias-Garcia 等^[91]利用胶束电动色谱对固相微萃取过程净化的 11 种三氮类除草剂进行了测定。

3.2.7 超临界流体色谱技术 (SFE)

以超临界流体作为色谱流动相的超临界流体色谱,能通过调节压力、温度、流动相组成多重梯度,选择最佳色谱条件。SFE 既综合了 GC 与 HPLC 的优点,又弥补了它们的不足,可在较低温度下分析分子量较大、对热不稳定的化合物和极性较强的化合物。

SFE 的优越性表现在:(1)样品在低温下提取,可避免挥发性农药的损失和降解,大大提高了分析方法的可靠性。(2)溶剂二氧化碳无毒,没有溶剂残留,环境污染小。排除了有机溶剂的再次污染。(3)提取效率高,对样品基质复杂、成分微量的农残分析尤为适用。(4)可以与大部分 GC 和 HPLC 的检测器相连接,如 FID, FPD, NPD 以及 MS 等连用,还可与红外(FTIR)、MS 联用,拓宽了其应用范围,许多在 GC 或 HPLC 上需经过衍生化才能分析的农药,都可以用 SFC 直接测定,萃取样品无须分离转移,可减少各种人为的偶然误差。(5)操作简单快速,适于常规分析。EL-Saeid 等^[92]采用 SFE 和 SFC 技术对罐头食品、水果、蔬菜中合成除菊酯、氨基甲酸类等农药残留进行分析,取得了准确、可靠的结果。Ling 等^[93]建立了一种 SFE 在线提取并分离中草药中 13 种有机氯农药残留的分析方法,用气相色谱(GC)-电子捕获检测器(ECD)和质谱(MS)测定残留量。RSD 为 5%~31%,平均回收率为 78%~121%。

3.2.8 生物学检测技术

基于生物学原理的一些检测技术,如酶抑制法、免疫分析法、生物传感器法、活

体检测法等，具有高效、快速、低成本的特点。弥补了色谱法的复杂、操作繁琐、试剂消耗量大、设备昂贵以及对极性和热不稳定农药的分析常常出现问题等方面的不足。

3.2.8.1 酶抑制法

主要用于测定有机磷与氨基甲酸酯农药残留，依据的原理主要是有机磷与氨基甲酸酯农药的杀虫机理，这两类农药均属乙酰胆碱脂酶抑制物，能够抑制动物神经系统胆碱酯酶活性，造成神经传导介质乙酰胆碱积累，影响神经正常传导造成昆虫死亡。利用碘化硫代乙酰胆碱在 pH7~8 的溶液中被胆碱酯酶水解，生成硫代胆碱，硫代胆碱使蓝色的 2,6-二氯靛粉褪色，褪色的程度与胆碱酯酶的活性成正相关，可在 600 nm 比色测定，酶活性越高，吸光值越低。当样品提取液中有一定量的有机磷类农药或氨基甲酸酯类农药存在时，酶活性受到抑制，吸光值较高，据此，可判断样品中有有机磷类农药或氨基甲酸酯类农药的残留情况。

近年来不少地方推出残留农药测定仪^[94]，应用分光光度计的基本原理，辨析酶反应过程中显色深浅转换成相应的抑制率，在仪器上以读数形式表达。该方法检测时，蔬菜中的水份、碳水化合物、蛋白质、脂等物质不会对农药残留物的检测造成干扰，不必进行分离去杂，节省了大量预处理时间，该方法对常见农药的检出限为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ~ $3.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，大都高于相应农药的最大残留限量，因此只能作为定性的快速初筛检测法^[95,96]。

3.2.8.2 免疫分析法

主要有放射性免疫分析、酶免疫分析、多组份分析物免疫分析、免疫传感器分析等^[97-99]。最为常用的是酶联免疫吸附分析法，酶联免疫吸附分析(Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay, ELISA)是应用免疫细胞化学中抗原与抗体之间高度特异性的配合反应，使不同的农产品有毒物质残留物及其代谢产物(抗原)与不同的添加酶(抗体)进行特异反应，而且反应的结果可以通过显色直接反映出来。由于每种添加酶抗体皆高度专一和敏感于特定的农产品有毒物质残留物，因此这种反应具有很高的特异性，敏感性与准确性^[100]。

这种方法一般可检测 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度，样品准备量很少，检测时间短，与常规气相/液相色谱法测定结果有着显著的相关性，而且大大缩短了检测时间，提高了检测结果的时效性，试剂盒可广泛用于现场样品和大量样品的快速检测，可准确定性、定量。但由于受到农药种类多，抗体制备难度大、在不能肯定样本中的农药残留种类时检测有一定的盲目性以及抗体依赖国外进口等影响，酶联免疫法的应用范围受到较大的限制^[101,102]

3.2.8.3 生物传感器法

生物传感器法是目前农药残留速测技术中的研究热点^[103]，是由一种生物敏感部

件与转换器紧密配合的分析装置,这种生物敏感部件对特定化学物质或生物活性物质具有选择性和可逆响应,通过测定 pH、电导等物理化学信号的变化,即可测得农药残留量。

利用农药对靶标酶(如乙酰胆碱酯酶)活性的抑制作用,利用复合纳米颗粒及纳米结构增强酶电极的性能并以生物活性单元(如:酶、蛋白质、DNA、抗体、抗原、生物膜等)作为敏感基元,对被分析物具有高度选择性的现代化分析仪器。纳米生物传感器技术是目前新兴的、在综合生物工程学、微电子学、材料科学、分析化学等多门学科地基础上发展起来的一项生物新技术,它把纳米材料和生物活性物质巧妙地与传感器技术、计算机技术结合,是传统的烦琐的化学分析方法的一场革命。纳米农药残留量传感器在农药残留的检测中,除了具有上述灵敏度高,可接近常规仪器检测标准的优点外,还具有结构紧凑、操作简便、检测迅速、选择性好等许多其它方法不可比拟的优势。目前国际上已有 Ngeh Ngwainbi 等研制成功了农药对硫磷的生物传感器。国内未见将纳米传感器技术与农药残留量检测相结合的农药传感器研制成功的报道。

3.2.8.4 活体检测法

活体检测法是使用活的生物直接测定^[104]。如农药与细菌作用后可影响细菌的发光程度,通过测定细菌发光情况,则可测出农药残留量。又如农药残留会导致家蝇中毒,使用敏感品系的家蝇为材料,用样本喂食敏感家蝇后,根据家蝇死亡率便可测出农药残留量,一般在 4~6 h 内可测出蔬菜是否含超量农药。但该法只对少数药剂有反应,无法分辨残留农药的种类,准确性较低。使用家蝇检测蔬菜中的农药残留,过程简单、无须复杂仪器,农户便可自行检测,缺点是检测时间较长,仅适于田间未采收农作物

3.3 小结

随着分析技术的不断发展,农药残留的检测技术也在发生着日新月异的变化。不断引入新技术,比如生物学,现代基因工程技术等,会对今后的农药残留前处理方式和分析技术,带来更新更快的发展。当前应开发简单、快速、有效的样品前处理技术,以及高灵敏度和高选择性的多残留同时检测方法。同时积极开发低毒、高效、低残留、易降解的农药,科学规范中药材绿色种植生产。

农药残留问题已成为世界广泛关注的中药安全问题之一,与人类健康和贸易出口有直接联系,而中药作为我国优秀文化遗产的瑰宝,在治疗疑难杂症,养生调理等方面为世界注目,因此,中药材农药残留的研究具有重要意义,应积极完善相关法律法规及残留限量标准,与国际标准接轨,确保中药材产业健康稳定的发展^[105]。

4 中药材生产中农药安全使用标准研究

随着农药在农业生产中大面积的推广和使用,人们对安全和健康更加关注,因此农药安全使用标准在有关农作物和水果蔬菜上已经做了比深入研究,其《农药合理使用准则》^[106](一~七)由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局发布。而中药材生产中农药安全使用标准的研究尚少,目前有对金银花、枸杞、大青叶、浙贝、金线莲、白术、龙胆等药材中农药安全使用标准进行研究,需要研究者的进一步关注和研究。

张艳等^[107]对三氯杀螨醇在枸杞上的残留动态进行了研究,三氯杀螨醇原始附着量在 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以下,半衰期为 5~7 d,农药消解较快,残留量低,施药 20 d 后消解率为 90% 以上。枸杞的采摘间隔期一般为 7 d 左右,该农药 5~7 d 的残留量均在 $0.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以下,可以保证枸杞的安全食用。金钱等^[108]研究了百菌清在大青叶中的残留动态,百菌清高低浓度在大青叶上的降解符合双室降解模式,且以选择 15 d 作为降解快慢的转折点较合理。百菌清高低浓度前期半衰期分别为 2.08 和 3.26 d,在大青叶上的安全间隔期均为 17 d。楼健^[109]研究了百菌清在浙贝上的残留动态,测定了百菌清在浙贝叶、块根和土壤中的残留量,百菌清在浙贝叶和土壤中的半衰期分别为 4.8 和 4.7 d。根据本试验的最终残留数据,建议百菌清在浙贝上最后一次施药与收获的安全间隔期为 15 d 较合理。刘海涛等^[110]测定农药世高在龙胆生长期的降解动态,通过计算农药世高在龙胆中的半衰期,从而制定农药世高的安全使用标准。在当地的气候条件下,农药世高在龙胆茎叶上的半衰期为 6.84~6.90 d,龙胆规范化种植中,建议农药世高喷施量应小于 $400 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$,安全使用间隔期为 40 d。邵清松等^[111]研究了金线莲栽培中多菌灵残留动态及安全使用标准,田间试验分别采用推荐剂量($1.0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$)和 1.5 倍推荐剂量($1.5 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$)进行处理,2 年连续实验结果表明,多菌灵在金线莲栽培基质中的半衰期为 7.01~8.51 d,在根中残留趋势为先升后降,半衰期为 4.93~5.71 d,在茎和叶中的消解半衰期分别为 3.58~4.27, 3.50~3.91 d。若多菌灵在金线莲植株中的最高残留限量推荐值为 $0.5 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$,每年以 $1.0 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的剂量喷施 4 次,最后一次施药和收获时间的安全间隔期可推荐为 28 d。林建等^[112]研究了多菌灵在白术根、土壤中的残留消解动态,并对其安全使用标准进行了讨论。田间试验分别用推荐剂量($0.675 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$)和 1.5 倍推荐剂量($1.000 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$)进行处理,2 年两地结果表明,多菌灵 50%WP 在白术土壤中的半衰期为 6.51~7.98 d,在根中残留趋势为先升后降,半衰期为 4.51~6.50 d,初加工后干样多菌灵的残留量为 $0.042\sim 0.433 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,明显高于加工前新鲜样品残留量。如果多菌灵在白术及其土壤中的 MRL(最大残留限量)值推荐为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,建议按照常规剂量($0.675 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$)每年喷施 2 次,白术上最后一次使用多菌灵距收获的安全间隔期可考虑暂定为 21 d。孙楠等^[113]研究了金银花规范化种植中农药啶虫脒的安全使用标准,3%啶虫脒乳油在金银花上施用后 10d 可

消解 90%以上, 半衰期 1.48~1.64d。农药啶虫脒在金银花中消解速度较快, 建议金银花规范化种植中施用 3%啶虫脒乳油的安全间隔期应控制在 5d 以上, 施药量应控制在 $18.75 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 以内, 以保证金银花使用安全。同时, 孙楠等^[14]研究了金银花栽培中农药三唑酮安全使用标准, 金银花中三唑酮的降解符合一级动力学模式, 其半衰期为 1.47~1.68 d, 建议金银花上最后一次使用三唑酮时间和采收时间的安全间隔期为 10 d, 施药量应控制在 $342 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 以内。陈美艳等^[15]研究了吡虫啉在枸杞中的残留动态, 吡虫啉在枸杞中的半衰期为 1.63 d, 施药 10 d 后残留量降至 $0.0126 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 最终残留量在 $0.002 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以下, 在正常喷药浓度的加倍剂量 2000 倍条件下, 安全采收间隔期为 5 d 以上。

5 讨论

随着当前中药材野生资源的匮乏以及人们对其需求的不断增长, 中药材作为一种经济作物, 其中大部分品种的来源都是通过人工种植, 人工种植同时也带来的虫害严重发生, 又因为我国农业生产中防治病虫害主要依靠化学农药手段, 所以中药材农药残留以及农药对中药药材质量的影响等问题相继出现, 因此, 我们可以看到中药材生产中农药安全使用研究所面临的一些问题以及对中药材生产的重大意义。

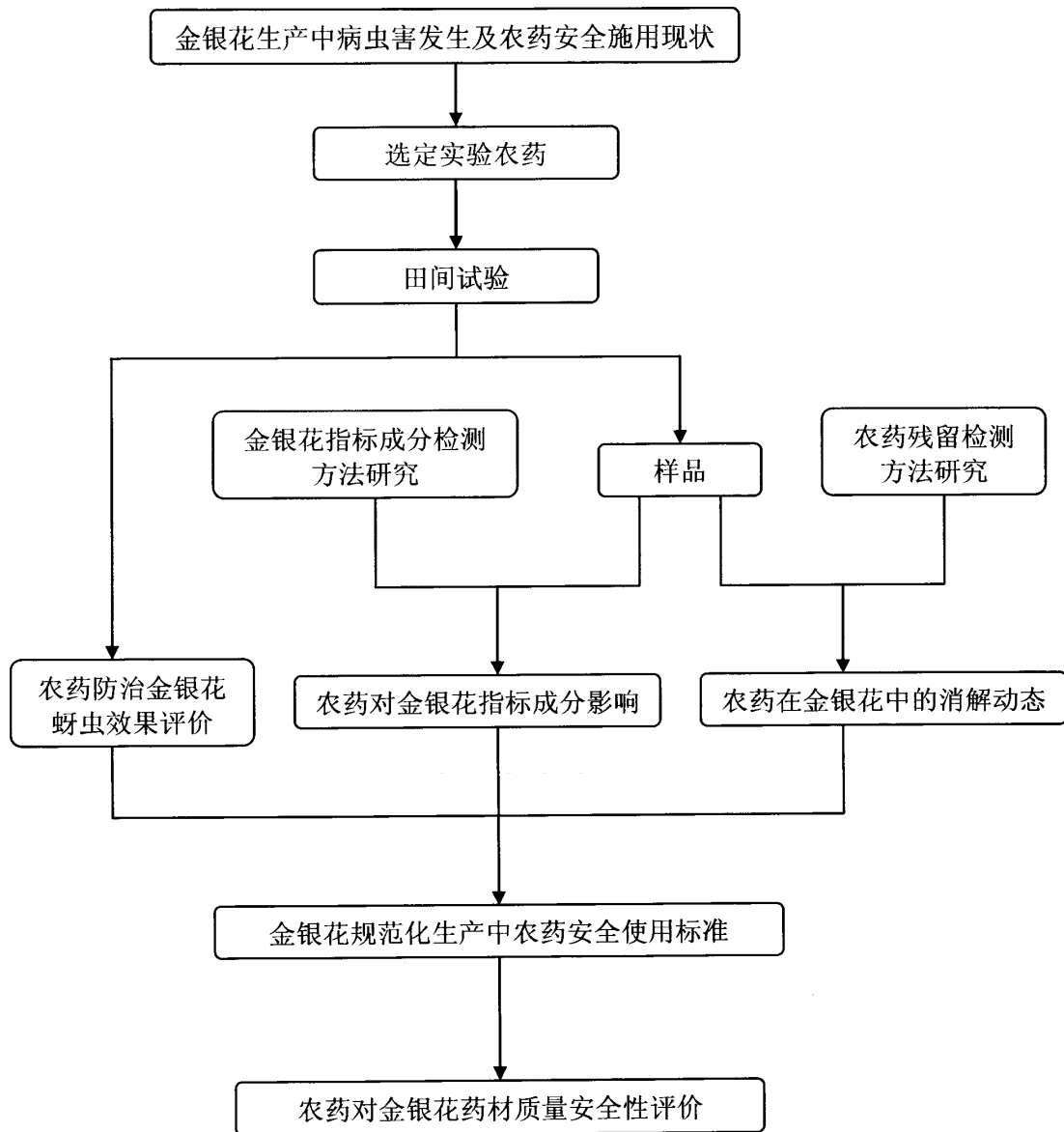
在生产中农药防治中药材病虫害的选择。病虫害对中药材的生长、产量及有效药用成分都有严重影响, 因此对中药材的大规模生产中病虫害的防治、合适农药选择及其用量均受到重视。

建立农药安全使用标准。目前对农药残留的研究大多停留在检测分析阶段, 但是检测并不是目的, 只有从源头抓起, 控制农药使用量, 才能保证中药材的品质。因此, 分别对每一种药材的病虫害发生规律来选用农药, 通过研究该农药对病虫害的防治效果及残留动态, 规定农药使用的安全间隔期, 从而制定出一系列的农药安全使用标准, 使中药材的种植规范化、标准化、科学化。

农药对中药材有效成分的影响。农药的施药量会直接影响到中药材有效成分的含量以及临床疗效, 因此, 在考察农药安全使用的研究中应同时考察农药对药材有效成分的影响, 合理选择农药, 确保中药材的生产和质量。

综上, 我们以金银花为研究对象, 选取具有代表性的第二代新烟碱类农药—噻虫嗪, 从噻虫嗪对金银花主要害虫—蚜虫的防治效果、在金银花上的残留动态及其对金银花有效成分的影响角度入手, 对金银花生产中农药噻虫嗪安全使用标准进行了研究, 从而对噻虫嗪对金银花药材质量安全性评价进行研究。

本研究的技术路线如下:



第二章 金银花生产中病虫害发生及农药施用 现状调查研究

我国金银花产地主要集中在山东、河北和河南三省，北京、天津、湖南、四川、安徽、重庆等地也有栽培。金银花是我国传统大宗中药材，因其独特的药用价值，金银花市场需求量的迅猛增长刺激了金银花种植产业的发展和壮大。同时，也带来了种植区病虫害的严重发生^[116-118]。中药材中农药残留量直接来自栽培过程中农药的使用，即农药品种的选择和使用方法。目前，金银花生产中农药的使用因没有具体的规范化管理，农民在使用时非常混乱，农药使用频繁，为了更好的进行试验设计，必须要掌握金银花产地的病虫害发生及农药施用情况。为此，本课题组对金银花主产区金银花的种植现状和病虫害防治中农药的使用情况进行了实地调查。

1 材料与方法

1.1 调查地点

金银花主产区，实地调查地区有河北巨鹿县，山东平邑县、苍山县。

1.2 调查内容

主要考察金银花农户种植地、金银花种植基地、金银花集贸市场、金银花协会、加工企业以及政府主管部门。调查问卷内容包括：（1）被访人性别、年龄、文化水平；（2）金银花种植面积；（3）金银花种植年限；（4）金银花病虫害高发期；（5）对金银花主要病虫害的熟悉程度；（6）金银花病虫害种类；（7）常用农药种类；（8）病虫害防治技术；（9）农药施用技术。

1.3 数据分析

调查问卷结果用 Excel 软件统计，绘图。

2 结果与分析

在实地考察过程中，向当地种植户、金银花合作社、金银花协会以及金银花企业等发放调查问卷 300 份，收回有效问卷 255 份，问卷回收率为 85%。统计结果如下：

2.1 金银花栽培情况的调查

根据调查统计结果，当地农户种植金银花的种苗主要是自家育苗，占 78.57%，而种苗来自当地企业公司、农村合作社、金银花协会的比例均较小，各占 7.14%（图 2）。

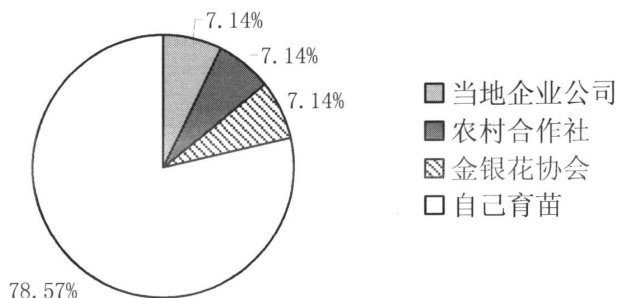


图 2 金银花种苗来源的统计结果

Fig.2 Statistics of honeysuckle seed sources

2.2 金银花病虫害发生情况的调查

根据对金银花田间虫害调查的统计结果，蚜虫占 28.13%，棉铃虫占 22.92%，金银花尺蠖占 8.33%，蛴螬占 8.33%，红蜘蛛占 8.33%，咖啡虎天牛占 6.25%，山楂叶螨占 5.21%，金银花叶蜂占 4.17%，忍冬细蛾占 3.13%，木蠹蛾类占 3.13%等（图 3）。

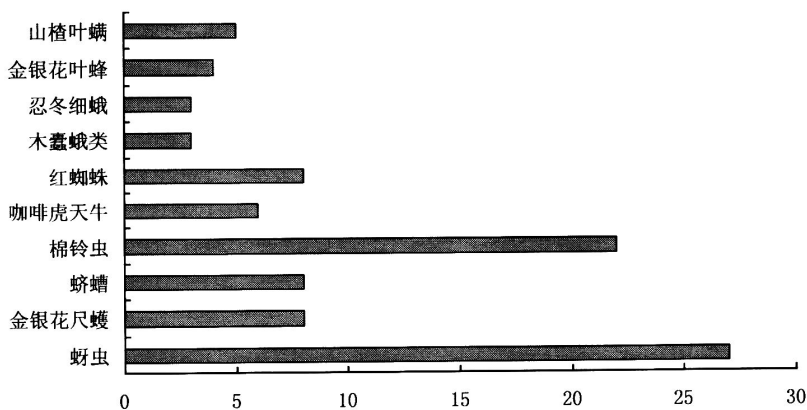


图 3 金银花田间虫害统计结果

Fig.3 Statistics of honeysuckle field pests

根据对金银花田间病害调查的统计结果，白粉病占 35.82%，褐斑病占 19.40%，叶斑病占 10.45%，根腐病占 16.42%，白绢病占 5.97%，炭疽病占 4.48%，黄叶病占 7.46%（图 4）。

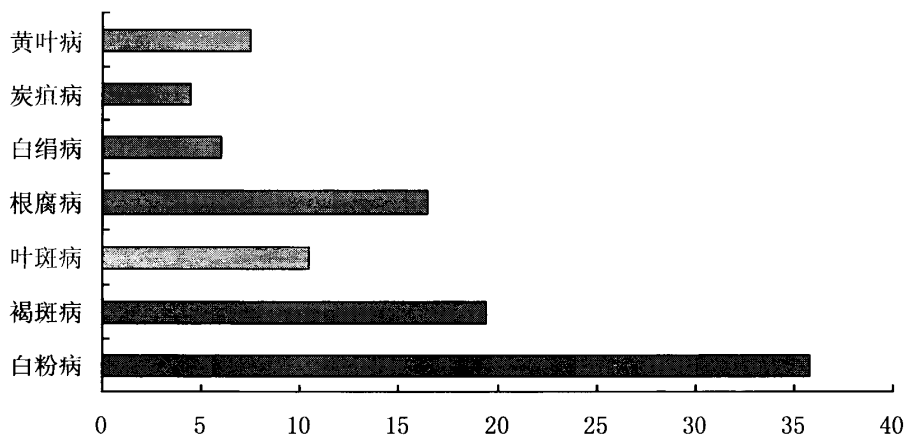


图 4 金银花田间病害统计结果

Fig.4 Statistics of honeysuckle field Disease

调查发现，花农普遍认同春季和夏季是病虫害的高发季节，但对秋季，特别是秋末冬初交替季节病虫害防治不够重视，而该阶段正值病原菌和害虫越冬阶段，也是预防和杀死越冬害虫和病原菌的关键时期，如能合理用药和相关措施，将能起到事半功倍的效果。白粉病和蚜虫的在金银花栽培上的发生和为害最为普遍，应结合当地的土壤和气候环境，针对上述病害和害虫做出相应的防治对策。

2.3 金银花种植户农药施用情况的调查

用于防治金银花田间虫害的农药中，吡虫啉占 32.43%，噻虫嗪占 5.41%，高效氯氟氰菊酯占 13.51%，阿维菌素占 17.57%，乐果占 9.46%，杀灭菊酯占 6.76%，敌敌畏占 4.05%，辛硫磷占 1.35%，毒死蜱占 1.35%，甲维盐占 6.76%，其他占 1.35%（图 5）。

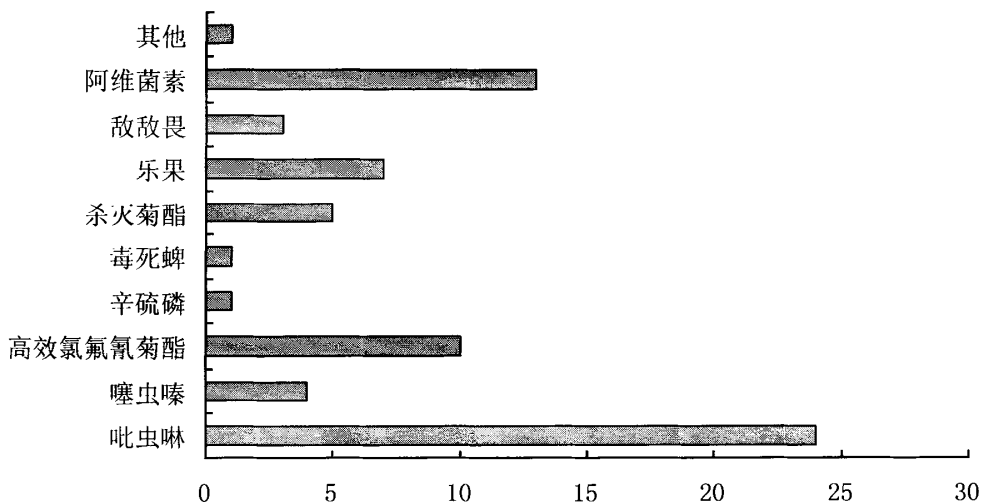


图 5 金银花虫害防治常用农药统计结果

Fig.5 Statistics of controlling honeysuckle pest commonly used pesticides

用于金银花田间病害防治的农药中，多菌灵占 43.14%，甲基托布津占 13.73%，代森锰锌占 11.76%，多抗菌素占 9.80%，波尔多液占 5.88%，退菌特占 5.88%，百菌清占 3.92%，三唑酮 1.96%，其他占 3.92%（图 6）。

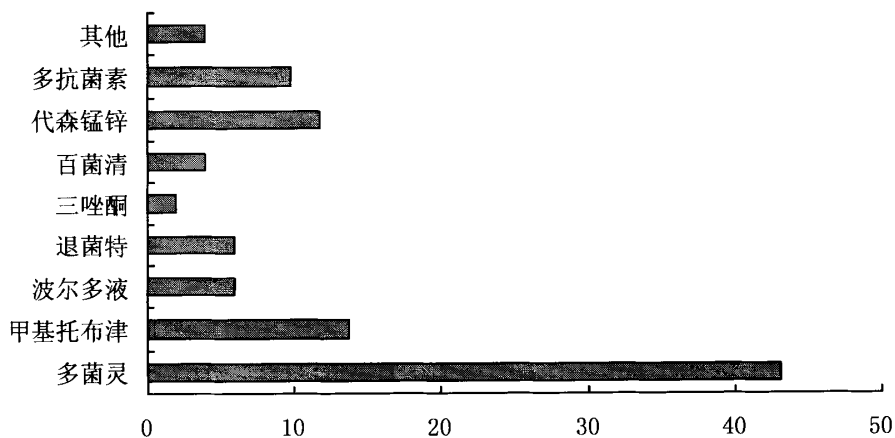


图 6 金银花病害防治常用农药统计结果

Fig.6 Statistics of controlling honeysuckle disease commonly used pesticides

在农药使用方面，54.84%的农户能够严格按照农药使用说明操作，19.35%的农户根据金银花病虫害发生及为害情况灵活用药，25.81%的农户凭借个人经验用药（图 7）。

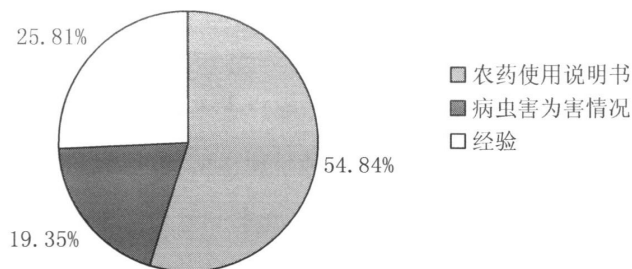


图7 农药使用情况的统计结果

Fig.7 Statistics of pesticides usage

在用药时期的选择上，45.16%的农户在病虫害尚未发生时就提前喷洒农药进行防治，54.84%的农户在金银花病虫害已经发生，但为害较轻时进行防治，而在病虫害为害较重时才开始用药的几乎没有（图8）。

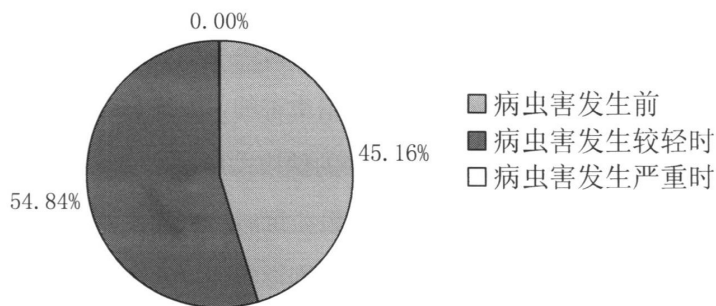


图8 农药施用时期的统计结果

Fig.8 Statistics of pesticide application period

根据上述调查统计结果，在防治金银花病虫害时，多数花农用药比较单一，防治病害和虫害常用多菌灵和吡虫啉，缺乏针对性和科学性；另外，花农不科学、不规范用药较为普遍，用药过程中多凭借个人经验，导致病虫害抗性增强，而且花农对特定虫害的发生特点和为害习性缺乏深入的认识和了解，用药针对性较差，导致用药混乱且用药量大但防治效果却不佳，这是造成金银花农药残留超标的主要因素之一。

3 本章小结

经过此次实地考察和调研，对金银花主产区的种植栽培现状、病虫害发生及农药施用现状等方面有了较全面的了解。

当地很少有自己培育的新品种，农户大多是通过扦插等方式育苗，只有少数企业有自己培育的品种，金银花种植品种呈现出明显的地域性，例如：巨鹿县主要是种植“巨花一号”，而平邑、苍山主要是“九丰一号”、“鲁峰一号”。金银花产业需要积极研究培育金银花新品种，并在当地推广种植，提高产量的同时也能提高品质。

在金银花栽培过程中，病虫害依然困扰着许多种植户。蚜虫和棉铃虫是为害金银花的主要害虫，他们从金银花的叶和花中汲取营养，导致金银花产量及品质下降。白粉病和褐斑病是为害金银花的主要病害，他们主要侵染金银花的枝叶，导致金银花产量下降。今年，金银花根腐病的发生较为严重，金银花地上部叶片出现明显的褪绿和枯斑，可能与当地今年雨量充沛等有关。

针对田间病虫害，种植户多使用吡虫啉和多菌灵，还有噻虫嗪、甲维盐等，农户农药施用相对单一，高效、低毒、低残留农药还有待推广。种植户多根据使用说明防治金银花病虫害，防治措施相对较科学，但是也有部分人根据自己经验用药，缺乏规范的技术指导。同时，个别地区仍在使用的敌敌畏等违禁剧毒农药，也有将各种杀菌杀虫农药混用的，甚至将杀菌农药用来防治虫害的，上述不合理、不科学的农药施用严重影响了金银花的质量以及金银花产业的健康发展，应在今后的金银花种植环节尽快解决。首先，应通过科技创新，选育金银花抗病抗虫优良新品种，药厂大力研发并选择高效、低毒、低残留的农药，拒绝生产剧毒农药；其次，科学引导，提供技术指导，提高农户的种植技术和药材安全意识；最后，金银花协会、金银花合作社等政府管理部门，积极发扬自己的职能，规范种植户在金银花的栽培、采摘及产品加工等方面，使金银花种植栽培规范化、科学化。

第三章 噻虫嗪防治金银花蚜虫的田间防效评价

金银花生产上,病虫害的发生为害较为普遍,其中金银花蚜虫尤为严重^[5,18,23]。金银花蚜虫以成虫、幼虫刺吸叶片汁液,造成叶片卷缩发黄,花蕾期会导致花蕾畸形;同时,蚜虫分泌的蜜露还易引发烟煤病的发生,影响金银花正常的光合作用,造成金银花减产^[7,119]。另外,蚜虫为害还会对金银花药材质量产生影响^[120,121]。噻虫嗪(thiamethoxam)是第二代新烟碱类杀虫剂,与吡虫啉相比,二者的R¹和R²以及杂环结构存在差异,致使噻虫嗪对刺吸式和咀嚼式口器害虫的触杀及胃毒活性显著提高^[56,57]。

噻虫嗪已被广泛用于药材蚜虫等害虫的防治,为研究噻虫嗪对金银花蚜虫的防治效果,分别于2013年和2014年在中国医学科学院药用植物研究所金银花试验地和北京市植物保护站顺义金银花试验地开展田间试验,研究了不同稀释倍数25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫的防治效果、最佳使用剂量及施用安全性,通过试验数据论证了25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫防治效果及最佳使用浓度。

1 材料与amp;方法

1.1 供试药剂

试验药剂:25%噻虫嗪水分散粒剂(先正达(中国)有限公司)

对照药剂:10%吡虫啉可湿性粉剂(江苏克胜农药有限公司)

1.2 调查对象

包括中华忍冬圆尾蚜 *Amphicercidus sinilonicericola* Zhang.和胡萝卜微管蚜 *Semiaphis heraclei* (Takahashi)。

1.3 试验地点

分别于2013和2014年在中国医学科学院药用植物研究所金银花试验地布置田间试验,两年的小区设计相同,金银花品种为四季花。2014年在北京市植物保护站顺义金银花试验地实施田间试验,金银花品种为大毛花。两处试验地均栽种金银花多年,之前未喷施过噻虫嗪。

1.4 试验处理

设 25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液 (A 组): 总有效分量是 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 25%噻虫嗪水分散粒剂 10000 倍液 (B 组): 总有效分量是 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 25%噻虫嗪水分散粒剂 15000 倍液 (C 组): 总有效分量是 $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 参考陈美艳^[122]、孙楠^[123]、刘清浩等^[124], 选用对蚜虫防治效果最佳的 10%吡虫啉可湿性粉剂 2000 倍液 (D 组) 作为对照药剂处理, 其总有效分量是 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 以清水作为空白对照 (E 组), 每个处理 3 次重复 (见表 2)。不同处理间设保护行, 每个处理调查 15 株, 每株金银花在东、西、南、北、中 5 个方位随机选取长约 30 cm 的枝条调查蚜虫数量, 并挂牌标记。

表 2 田间试验不同药剂处理

Table 2 Different pesticide treatment of field test

处理组	药剂	有效成分含量/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
A	25%噻虫嗪 WG5000 倍液	50
B	25%噻虫嗪 WG10000 倍液	25
C	25%噻虫嗪 WG15000 倍液	16.7
D	10%吡虫啉 WP2000 倍液	50
E	清水	0

分别于 2013 年 5 月 24 日、2014 年 5 月 12 日、5 月 13 日喷药, 每株均匀喷 300 mL, 用药一次。先喷清水对照组, 然后由低到高喷噻虫嗪药剂, 清洗喷雾器后喷洒吡虫啉药剂。用药当天均晴好、微风。2013 年分别于用药 1、3、5、7、10 d 后调查枝条上的虫口数, 2014 年有所调整, 分别于用药 1、3、7、10、14 d 后调查枝条上的虫口数。同时观察金银花植株生长是否异常。分别计算虫口减退率和防治效果, 调查结果用邓肯氏新复极差 (DMRT) 法进行统计分析^[125-127]。计算公式如下:

$$\text{虫口减退率 (\%)} = \frac{\text{用药前活虫数} - \text{用药后活虫数}}{\text{用药前活虫数}} \times 100\%$$

$$\text{防治效果 (\%)} = \frac{\text{处理组虫口减退率} - \text{对照组虫口减退率}}{100 - \text{对照组虫口减退率}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 不同药剂处理对金银花的安全性

田间调查发现, 药剂处理后金银花的株形、叶色、花蕾、生长状况等均与空白对照基本一致, 未发现药害现象, 说明 25%噻虫嗪水分散粒剂可用于金银花蚜虫的防治, 供试浓度及使用剂量不会影响金银花正常生长及。

2.2 2013 年 25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫的防治效果

调查发现, 25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫具有良好的防治效果(见表 3、图 9)。用药 1 d 后, 各药剂处理对金银花蚜虫的防治效果均低于 70%, 说明 25%噻虫嗪水分散粒剂的速效性不明显。用药 3 d 后, 各药剂处理对金银花蚜虫的防治效果均明显增加。用药 5 d 后, 各处理药剂的防治效果与用药 3 d 后的结果区别不明显, 因此, 这也作为 2014 年重复试验修改虫口调查统计间隔天数的依据。用药 7、10 d 后, 只有 25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液的防治效果持续增加, 高达 95%以上, 具有一定的持效性。总体而言, 25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液的防治效果均明显高于 10%吡虫啉可湿性粉剂 2000 倍液, 而 25%噻虫嗪水分散粒剂 10000 倍液的防治效果与 10%吡虫啉可湿性粉剂 2000 倍液差别不大, 方差比较分析均无显著性差异。

表 3 不同处理药剂对金银花蚜虫的防治效果(2013 年)(n=3)

Table 3 The control effect of different pesticide treatment to honeysuckle aphid in 2013(n=3)

杀虫剂	稀释倍数	用药后天数/%				
		1d	3d	5d	7d	10d
25%噻虫嗪 WG	5000	66.54±4.58*	88.00±6.18	88.70±8.10*	95.05±6.84*	97.35±3.96*
	10000	67.17±7.79*	85.79±16.93	87.33±15.42*	83.82±20.05*	87.97±15.36
	15000	55.43±11.26	72.01±9.67*	52.24±20.95**	52.69±25.79**	65.05±23.75**
10%吡虫啉 WP	2000	58.81±12.03	81.63±4.05	70.04±8.49	78.52±1.30	86.51±0.87

注: 与对照药剂组(10%吡虫啉)比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

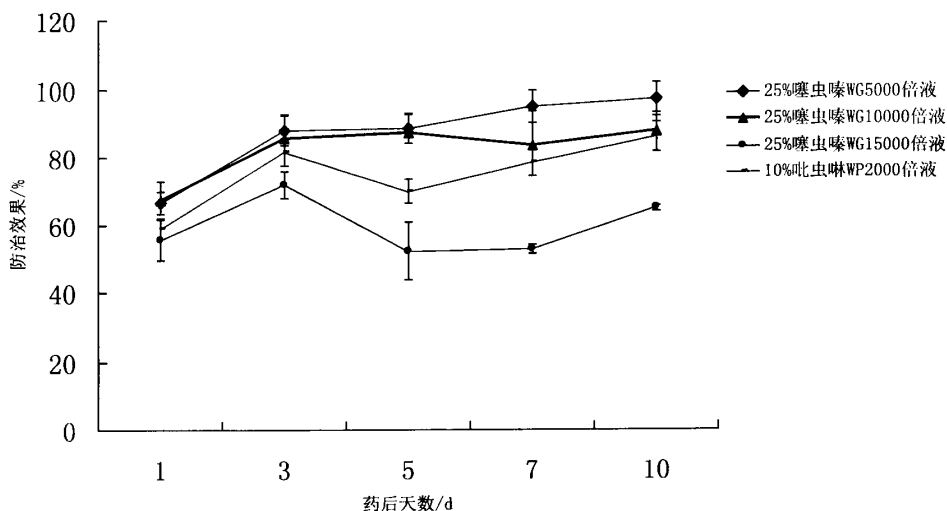


图 9 不同药剂处理对金银花蚜虫的防治效果比较 (2013 年)

Fig.9 The control effect comparison of different pesticide treatment to honeysuckle aphid in 2013

田间试验是一种开放式的环境,因此会受到多方面的因素影响,包括可控的因素(如施药量、数据统计天数、小区设计等)和不可控的因素(如气候和天气状况等)。因此仅仅一年的实验数据不能够说明农药的防治效果,因此本课题组设计了第二年的重复实验,同时,考虑到金银花的种类差异,因此增加了北京市植保站顺义金银花基地大毛花种类的田间药效试验。通过 2013 年的试验结果,考虑到用药后第 5d 蚜虫的药剂反应不具有特点,试验结果与第 3d 接近,因此取消用药后第 5d 的虫口统计,增加第 14d 的虫口统计,借以说明对农药的长效性。

2.3 2014 年 25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫的防治效果

2.3.1 2014 年药用植物研究所田间试验结果

根据 2014 年对中国医学科学院药用植物研究所金银花试验基地的调查结果(见表 4、图 10),用药 1 d 后,蚜虫的虫口减退率较低,对金银花蚜虫的防治效果也相对较低,与第一年的试验结果较为接近,说明 25%噻虫嗪水分散粒剂的速效性不明显。用药 3 d 后各药剂处理对金银花蚜虫的虫口减退率以及防治效果均有所增加,且用药 7 d 后,金银花蚜虫的虫口减退率明显增加,防治效果均明显呈上升趋势,说明 25%

噻虫嗪水分散粒剂的各处理在用药 7d 后能较明显的发挥作用。当用药 10 d、14 d 后，农药的作用发挥到了极大的作用，25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液的防治效果高达 97%，明显高于 10%吡虫啉可湿性粉剂 2000 倍液。方差分析结果显示，25%噻虫嗪水分散粒剂各浓度药剂处理与 10%吡虫啉可湿性粉剂 2000 倍液在金银花蚜虫的防治效果上存在显著或极显著差异。

同时，由图表可以看出，25%噻虫嗪水分散粒剂 5000、10000 倍液，对金银花蚜虫的减退率和防治效果均符合化学防治的药效要求，满足农业生产中对植株的保护值。因此通过在药用植物研究所金银花试验基地两年的试验可以得出，25%噻虫嗪水分散粒剂适用于金银花四季花品种的蚜虫防治，且在本药剂 5000、10000 倍液时的防治效果较好。

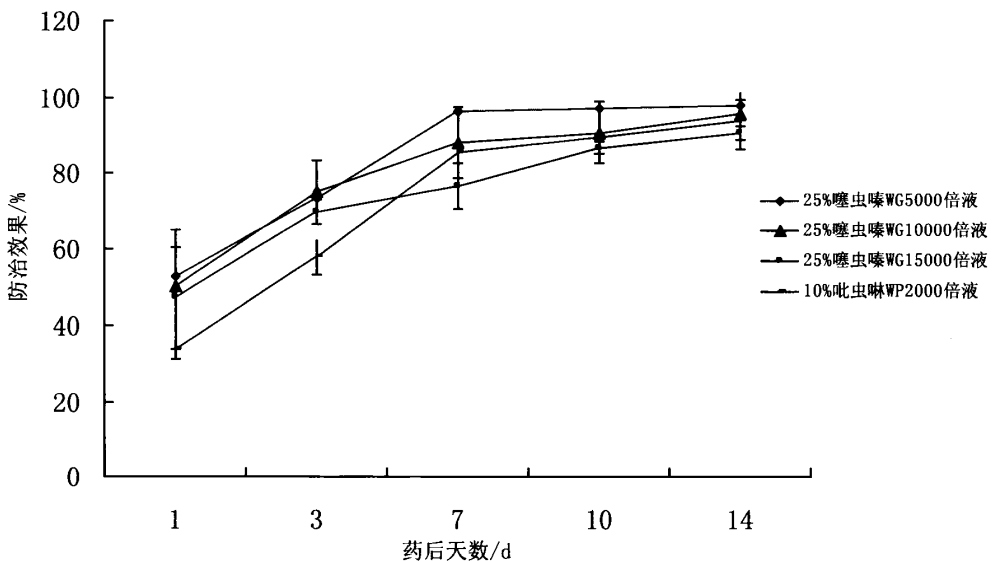


图 10 不同药剂处理对金银花蚜虫的防治效果比较（2014 药植所）

Fig.10 The control effect comparison of different pesticide treatment to honeysuckle aphid in 2014 at

IMPLAD

2.3.2 2014 年北京市植物保护站田间试验结果

根据 2014 年对北京市植物保护站金银花试验基地的调查结果（见表 5、图 11），用药 1 d 后各处理的虫口减退率和防治效果也是相对较低，部分药剂见到虫口增加的现象。当用药 3 d 后，25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液、10000 倍液虫口减退率达到 80%以上，且 3 种处理对金银花蚜虫的平均防治效果均达 80%以上。用药 7 d、10 d、

表 4 不同药剂处理对金银花蚜虫的防治效果 (2014 年药植所) (n=3)

Table.4 The control effect of different pesticide treatment to honeysuckle aphid in 2014
at IMPLAD (n=3)

杀虫剂	稀释倍数	药后 1d		药后 3d		药后 7d		药后 10d		药后 14d	
		虫口减 退率/%	校正防效/%	虫口减 退率/%	校正防效/%	虫口减 退率/%	校正防效/%	虫口减 退率/%	校正防效/%	虫口减 退率/%	校正防效/%
25%噻虫	5000	38.85	52.54±12.45	60.00	73.28±10.08 *	92.29	96.42±0.98 **	92.82	97.25±1.83 **	93.46	97.84±1.64 *
啉 WG	10000	35.76	50.07±1.43	62.70	75.09±4.76 *	74.13	87.98±7.32	75.73	90.69± 4.27	86.65	95.58±0.39
	15000	31.76	47.04±13.31	54.74	69.77±3.25	49.60	76.58 ±6.24**	65.55	86.78±1.59	71.69	90.64±1.96 *
10%吡虫	2000	14.65	33.76±14.72	36.60	57.65±7.91	68.80	85.50±1.59	73.11	89.68±1.86	81.48	93.88±1.21
啉 WP											

注: 与对照药剂 (10%吡虫啉) 比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

14 d 后, 各处理药剂对金银花蚜虫的冲口耐减退率和平均防治效果均增加, 其中 25% 噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液的防治效果达到 99%。方差分析结果发现, 用药 3 d、7 d、10 d、14 d 后, 25% 噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液、10000 倍液对金银花蚜虫的防治效果均明显高于 10% 吡虫啉可湿性粉剂 2000 倍液, 且具有显著性或极显著性差异。

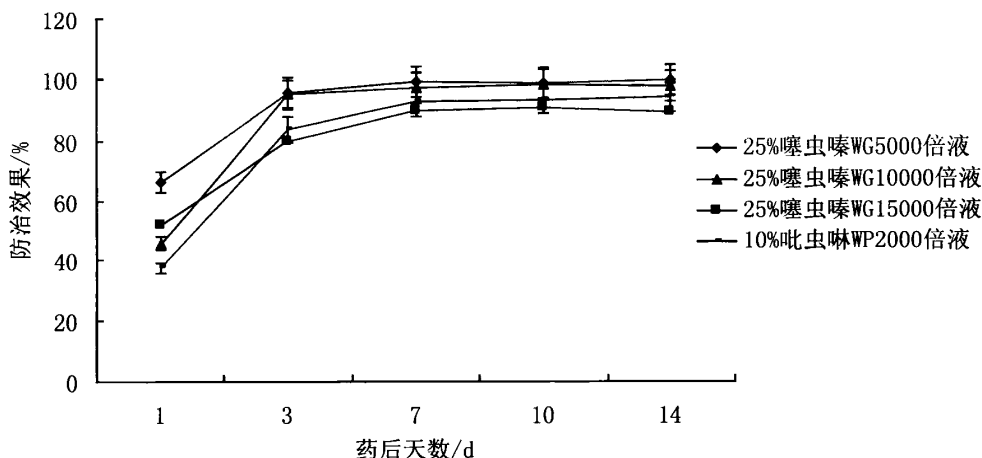


图 11 25% 噻虫嗪水分散粒剂防治金银花蚜虫效果 (北京市植物保护站)

Fig.11 The control effect comparison of different pesticide treatment to honeysuckle aphid at Beijing Plant Protection Station

对北京市植保站顺义金银花基地的田间药效试验, 虽然只有一年的试验数据, 但是参考在药用植物研究所两年的试验结果, 具有相同的趋势, 同样满足农业生产中农药对植株的保护。因此, 可以说明 25% 噻虫嗪水分散粒剂对金银花大毛花品种具有良好的防治效果, 且本药剂 5000、10000 倍液时的防治效果较好。

通过对两年试验结果的统计分析可知, 25% 噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫表现出较好的防治效果。药用植物研究所金银花试验基地 2014 年的蚜虫防治效果均较 2013 年高, 其中 25% 噻虫嗪水分散粒剂 15000 倍液的防治效果差别较大, 这可能与 2014 年的气候因素有关, 2014 年较 2013 年气温回升快, 且干旱无降水, 蚜虫爆发较严重, 导致金银花蚜虫虫口基数差别很大, 对后续的防治效果评价产生一定影响。

表 5 不同药剂处理对金银花蚜虫的防治效果 (北京市植物保护站) (n=3)

Table.5 The control effect of different pesticide treatment to honeysuckle aphid at Beijing Plant Protection Station (n=3)

杀虫剂	稀释倍数	药后 1d		药后 3d		药后 7d		药后 10d		药后 14d	
		虫口减 退率/%	校正防效/%	虫口减 退率/%	校正防效/%	虫口减 退率/%	校正防效/%	虫口减 退率/%	校正防效/%	虫口减 退率/%	校正防效/%
25%噻 虫嗪 WG	5000	34.14	66.51±19.30*	87.69	95.75±3.25**	97.54	99.12±0.46*	96.33	98.81±0.72*	98.58	99.52±0.24*
	10000	-6.54	45.82±11.77	85.52	95.01±2.37**	91.89	97.09±2.13	93.89	98.01±1.02*	92.89	97.57±2.54
	15000	5.61	52.00±17.30	42.18	80.05±4.23	72.00	89.96±2.11	71.65	90.78±5.59	68.97	89.41±6.23
10%吡 虫啉 WP	2000	-22.95	37.48±19.52	52.80	83.72±7.67	79.06	92.50±5.97	79.92	93.47±1.78	82.73	94.11±2.50

注: 与对照药剂 (10%吡虫啉) 比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

3 本章小结

通过本研究的结果可知, 25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花施用安全, 适宜防治金银花蚜虫, 且适宜在四季花和大毛花品种上使用。25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液、10000 倍液的防治效果较好, 持效期较长, 但速效性并不突出。另外, 噻虫嗪可以杀死卷叶内的蚜虫及下部不易喷施叶片上的蚜虫, 表现有一定的内吸渗透性。综合两方面因素, 说明噻虫嗪在金银花蚜虫防治上具有良好的应用前景。

本研究在 2013 年的试验基础上, 针对施药后 3 和 5d 的差异不明显, 在 2014 年的重复试验时修改了施药后虫口统计间隔天数, 即除去药后间隔 5d 的统计; 为了研究试验药剂的持效期, 增加了药后间隔 14d 的虫口统计设计; 为了研究试验药剂对不同金银花品种防治效果, 增加了 2014 年北京植物保护站顺义金银花基地大毛花品种的试验部分。结果在证实了噻虫嗪药剂的持效期高达 14d 以上, 且在不同品种四季花、大毛花上有相同的结果。

通过两年两地的试验结果, 25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液、10000 倍液对金银花蚜虫的防治效果较好, 与调查中常使用的吡虫啉药剂相比, 有相似或者更佳的防治效果, 药用植物研究所金银花试验基地 2014 年的蚜虫防治效果均较 2013 年高, 其中 25%噻虫嗪水分散粒剂 15000 倍液的防治效果差别较大, 这可能与 2014 年的气候因素有关, 2014 年较 2013 年气温回升快, 且干旱无降水, 蚜虫爆发较严重, 导致金银花蚜虫虫口基数差别很大, 对后续的防治效果评价产生一定影响。因此, 生产上, 根据蚜虫不同的发生情况以及产地气候等情况, 推荐使用 25%噻虫嗪水分散粒剂 10000~5000 倍液防治金银花蚜虫。

通过调查得知, 金银花蚜虫爆发期与金银花采花期重叠, 考虑到金银花蚜虫高龄若虫和成虫的耐药性较强, 建议尽量选择在低龄若虫盛期用药, 当蚜虫发生较严重时, 可适当增加用药量和用药次数。用药时应重点对金银花中、下部叶片喷雾, 确保喷雾均匀, 充分发挥药剂的作用。另外, 喷施化学药剂时应注意保护瓢虫、食蚜蝇、草蛉以及寄主蜂等金银花蚜虫的自然天敌。在田间栽培管理方面, 应结合夏季与冬季剪枝处理, 除去病虫害发生严重的叶片与枝条, 减少越冬虫卵, 从而控制蚜虫的次年爆发。

第四章 噻虫嗪在金银花中的降解及残留动态研究

噻虫嗪早在 2001 年在我国就取得登记并在作物上推广使用, 目前已有关于噻虫嗪在人参^[128]、白芍^[129]、黄秋葵^[130] 等中药材以及茶叶^[131]、烟叶^[132]、马铃薯^[133]、糙米^[134]等农作物中的降解残留动态的相关报道, 但国内外有关该农药在中药材金银花上还未见报道。在参考农业部农药检定所编著的《农药残留实用检测方法手册》以及国内外文献的基础上, 采用高效液相色谱法并建立一套前处理简便、灵敏度较好、准确度和精密度符合农药残留要求的方法。本研究通过对噻虫嗪在金银花中的残留分析和消解动态的研究, 提出了金银花规范化种植中噻虫嗪的安全使用标准建议, 为金银花规范化种植中农药安全使用标准的建立提供了科学依据。

1 材料与方方法

1.1 仪器与药剂

1.1.1 实验仪器

Waters2695 型高效液相色谱仪, 2996 紫外检测器, 色谱柱: Agilent TC-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); SPE 柱: (Florisil, 1000 mg, 6 ml); 旋转蒸发仪 (RE-52AA), 氮吹仪 (HGC-12A), 高速离心机 (TG16MW), KQ-250DE 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), 电子分析天平 (FA2004), 超纯水机 (Milli-Q), 抽滤瓶, 容量瓶, 具塞三角瓶, 分液漏斗, 中药粉碎机 (DFT-100), 恒温烘箱, 背负式手动喷雾器 (市下 SX-LK16)。

1.1.2 实验药剂

噻虫嗪标准品 (纯度 99.0%, 瑞士 Syngenta 公司), 25%噻虫嗪水分散粒剂 (先正达 (中国) 投资股份有限公司), 甲醇、乙腈 (色谱纯), 甲醇、无水硫酸钠、氯化钠、二氯甲烷、丙酮、石油醚(分析纯), 实验用水均为超纯水。

1.2 田间试验设计

分别于 2013 年、2014 年在中国医学科学院药用植物研究所金银花试验基地进行田间试验。在试验区共设每个小区 15 株金银花, 每个处理组 3 次重复, 不同处理间设有保护行, 小区间随机排列。田间施药期间时刻关注田间植株及天气变化情况, 并做记录。

1.2.1 消解动态试验

共设推荐剂量组 ($90 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$)、高剂量组 ($135 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$) 和空白对照组, 每个剂量设施药 1 次, 每株金银花均匀喷洒相应处理药剂 300 mL。分别于施药后的 2 h、1、3、5、7、10、14、21 d 进行随机多点取样, 分别位于金银花植株的前、后、左、右、上、中、下等不同方位点。样品经逐步升温法烘干后于 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮存备用。

1.2.2 最终残留试验

共设推荐剂量组 ($90 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$)、高剂量组 ($135 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$) 和空白对照组, 每个剂量 3 次施药, 每株金银花均匀喷洒相应处理药剂 300 mL, 每次施药间隔期 7 d, 最后 1 次施药后的 3、7、14、21 d 进行随机多点取样, 分别位于金银花植株的前、后、左、右、上、中、下等不同方位点。样品经逐步升温法烘干后于 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮存备用。

1.3 供试品溶液的制备

将烘干的金银花粉碎后过 60 目筛, 准确称取 2.0000 g 金银花粉末于 100 mL 具塞三角瓶中, 加入 20 mL 甲醇:水 (7:3, v/v) 混合溶剂, 充分摇匀, 超声震荡提取 1 h, 过滤, 再用 30 mL 上述溶剂分 3 次淋洗三角瓶和滤渣, 将滤液合并, 用旋转蒸发仪浓缩至约 5 mL, 待萃取。

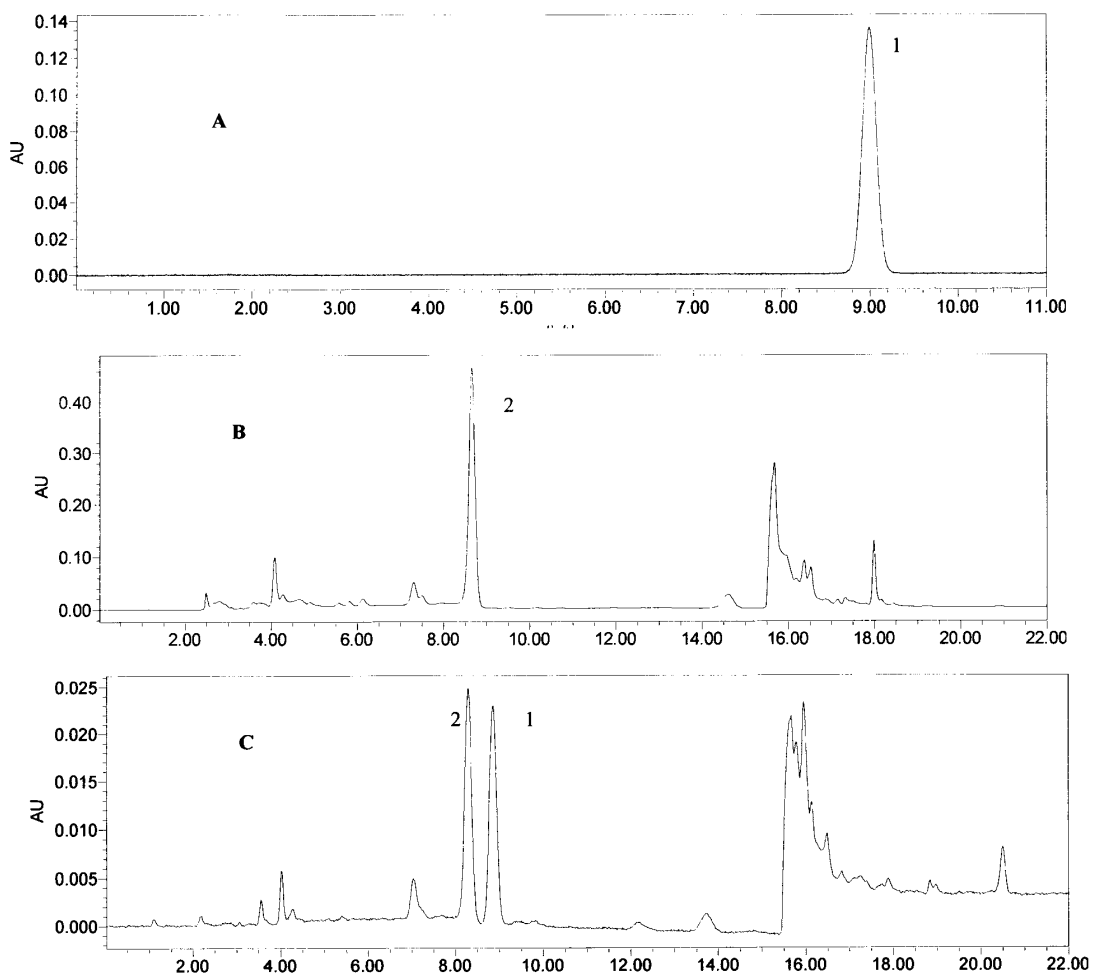
将上述样品滤液的浓缩液全部转移至预先装有 30 mL 20% 的氯化钠水溶液的分液漏斗中, 用 20 mL、20 mL、10 mL 二氯甲烷分 3 次萃取, 将有机相萃取液经过装有无水硫酸钠层的玻璃漏斗, 过滤到 250 mL 三角瓶中, 用 30 mL 的二氯甲烷分 3 次淋洗无水硫酸钠, 合并二氯甲烷相减压浓缩至近干, 待柱净化。

用 5 mL 石油醚预淋洗 Florisil 柱, 用 10 mL 丙酮:石油醚 (3:7, v/v) 混合溶剂分 2 次冲洗上述蒸馏瓶, 并倒入小柱中, 再用 10 mL 乙腈洗脱小柱, 收集洗脱液于蒸馏瓶中, 旋转蒸发后用氮吹仪吹至近干。用流动相定容至 2 mL, $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心, 待液相色谱测定, 外标法进行定性和定量分析。

1.4 高效液相色谱检测方法学考察

1.4.1 色谱条件

色谱柱: Agilent TC-C18 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); 流动相: V (乙腈): V (水) = 20:80, 经 $0.45 \mu\text{m}$ 孔径的滤膜过滤, 并在超声波浴槽中超声脱气 15 min; 检测波长: 253 nm; 柱温: $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$; 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量: 10 μL 。在上述色谱条件下, 噻虫嗪的保留时间较短, 峰型较好。色谱图见图 12。



A.对照品; B.空白; C.样品; 1.噻虫嗪; 2 杂峰

图 12 金银花中噻虫嗪含量测定 HPLC 图

Fig.12 HPLC charts of determination of thiamethoxam content in honeysuckle

1.4.2 线性关系考察

用流动相将噻虫嗪标准品配制成 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液，再稀释成 0.04 、 0.40 、 1.00 、 2.00 、 $5.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 5 个浓度，在 1.4.1 色谱条件下测定，记录峰面积。以噻虫嗪的浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标、峰面积积分为纵坐标，绘制标准曲线，计算回归方程 $Y=3.2568 \times 10^4 X+3.5535 \times 10^3$ ， $R^2=0.9999$ 。结果表明噻虫嗪在 $0.04 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内，峰面积与溶液浓度呈良好的线性关系，见图 13。

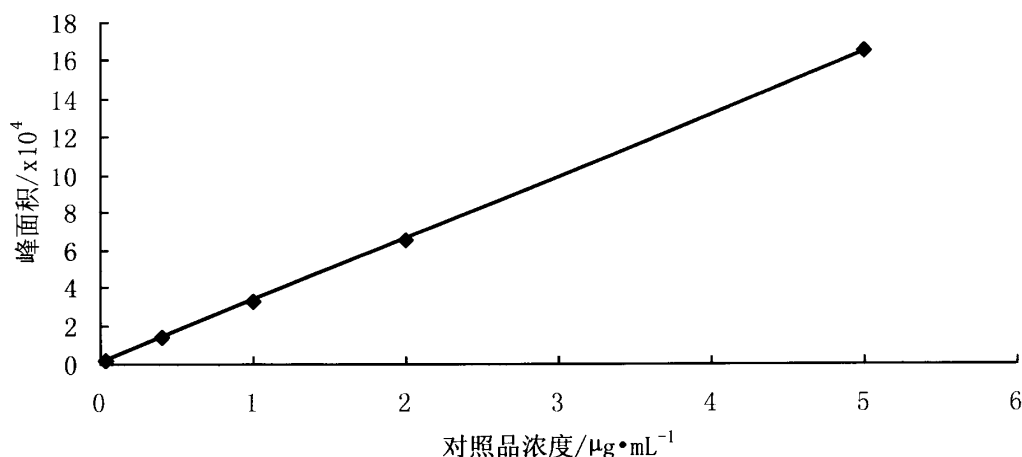


图 13 噻虫嗪标准曲线峰面积测定结果

Fig.13 Thiamethoxam standard curve of peak area measurement result

1.4.3 精密度试验

取标准品溶液 ($2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 在 1.4.1 色谱条件下, 连续进样 6 次, 峰面积平均值为 92306.7, RSD 为 0.75%, 说明仪器精密度良好。

1.4.4 稳定性试验

按照 1.3 方法制备供试品溶液, 在 1.4.1 色谱条件下, 分别于 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 进样, 峰面积平均值为 304 871.5, RSD 为 1.91%, 说明供试品溶液中噻虫嗪的含量在 24 h 内稳定性较好。

1.4.5 重复性试验

按照 1.3 方法对同一样品重复制备 6 份供试品溶液, 在 1.4.1 色谱条件下, 分别进样, 峰面积平均值为 201 137.5, RSD 为 1.73%, 说明样品的重复性良好。

1.4.6 回收率试验

选取空白对照组的金银花样品, 在其中添加噻虫嗪标准溶液, 使其浓度达到 0.05、0.50、5.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每个浓度重复 3 次, 按照 1.3 的方法处理后按照 1.4.1 的色谱条件下测定噻虫嗪的添加回收率, 见表 6。由噻虫嗪在金银花中的回收率的结果可知, 在 0.05~5.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的添加浓度下, 噻虫嗪在金银花中的平均添加回收率为 84.91%~94.44%, RSD 均低于 4.96%, 方法的最低检出限为 0.02 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 符合农药残留分析的要求。

表 6 噻虫嗪在金银花中的添加回收率 (n=3)

Table 6 Recoveries of thiamethoxam in honeysuckle (n=3)

添加浓度/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%			平均回收率 /%	RSD/%
	1	2	3		
0.05	89.77	82.65	82.31	84.91	4.96
0.50	86.89	90.36	91.72	89.66	2.78
5.00	94.18	92.94	96.20	94.44	1.74

2 结果与分析

2.1 噻虫嗪在金银花中的残留检测结果

2.1.1 噻虫嗪在 2013 年金银花样品中检测结果

通过对 2013 年采回的 8 批金银花样品, 包括高剂量组、推荐剂量组以及空白对照组样品, 3 个小组各重复 3 次共 72 份样品, 按照 1.3 方法制备供试品溶液, 在 1.4.1 色谱条件下, 进行金银花中噻虫嗪含量的检测分析, 具体检测结果见表 7。

表 7 噻虫嗪在金银花中的残留检测结果 (2013 年) (n=3)

Table 7 Thiamethoxam residue test results in honeysuckle in 2013(n=3)

药后天数/d	残留量/ (mg · kg ⁻¹)	
	高剂量组	推荐剂量组
1/12(0.08333)	6.06±4.74	3.88±3.55
1	3.72±2.94	1.97±2.11
3	1.46±1.82	0.84±1.85
5	0.67±0.69	0.41±2.09
7	0.20±0.26	0.14±1.79
10	0.10±0.48	0.08±0.90
14	ND	ND
21	ND	ND

注: ND 表示 Not detected, 即检出浓度低于最低检出浓度 0.02 mg · kg⁻¹。

由以上 2013 年试验样品检测结果可知, 噻虫嗪高剂量组和推荐剂量组在施药后 2 h 的原始沉淀量分别为 6.06 mg · kg⁻¹ 和 3.88 mg · kg⁻¹, 10 d 后残留量分别为 0.10 mg · kg⁻¹ 和 0.08 mg · kg⁻¹, 14 d 时, 两种施药剂量的样品中在仪器检测范围内, 均

未检测到噻虫嗪，说明在药后 14 d 噻虫嗪在金银花中能够降解完全。由图 14 可知，两种施药剂量的消解趋势是相同的，与施药浓度成正相关，与施药后的间隔天数成负相关。

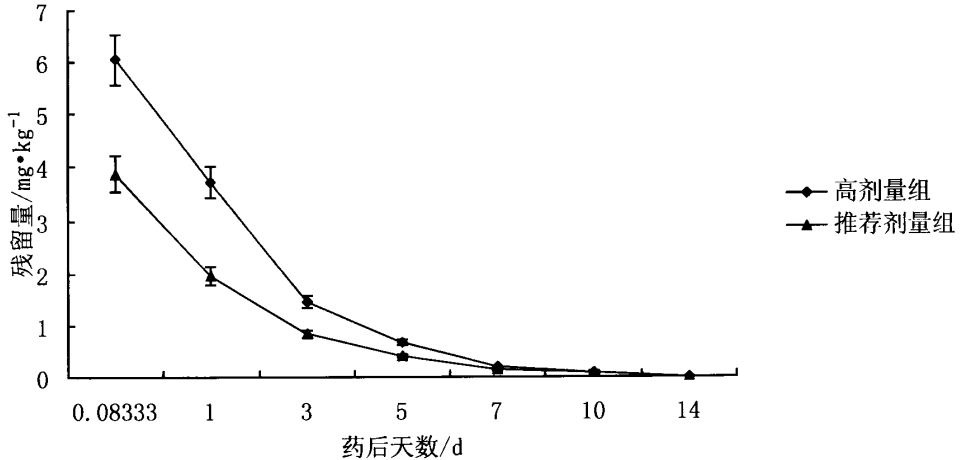


图 14 噻虫嗪在金银花中的消解动态曲线（2013 年）

Fig.14 The degradation dynamics curve of thiamethoxam in honeysuckle in 2013

2.1.2 噻虫嗪在 2014 年金银花样品中检测结果

2014 年重复验证试验，在 2013 年试验基础上，调整第一次施药及第一次采样时间，确保金银花样品的采摘量。通过对 2014 年采回的 8 批金银花样品，包括高剂量组、推荐剂量组以及空白对照组样品，3 个小组各重复 3 次共 72 份样品，按照 1.3 方法制备供试品溶液，在 1.4.1 色谱条件下，进行金银花中噻虫嗪含量的检测分析，具体检测结果见表 8。

表 8 噻虫嗪在金银花中的残留检测结果（2014 年）(n=3)

Table 8 Thiamethoxam residue test results in honeysuckle in 2014(n=3)

药后天数/d	残留量/ (mg · kg ⁻¹)	
	高剂量组	推荐剂量组
1/12	8.47±2.44	5.93±1.90
1	4.97±1.46	3.68±2.59
3	2.45±1.19	1.97±0.51
5	0.98±1.07	0.71±1.14
7	0.33±3.02	0.28±2.92
10	0.15±4.84	0.10±2.81

14	0.05±3.29	ND
21	ND	ND

注：ND 表示 Not detected，即检出浓度低于最低检出浓度 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

由以上 2014 年试验样品检测结果可知，噻虫嗪高剂量组和推荐剂量组在施药后 2 h 的原始沉淀量分别为 $8.47 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $5.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，10d 后推荐剂量组的残留量为 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，14 d 后高剂量组的残留量为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，14 d 时，推荐剂量组的样品中在仪器检测范围内，均未检测到噻虫嗪，而 21 d 后高剂量组样品中在仪器检测范围内，均未检测到噻虫嗪，说明在药后 21 d 噻虫嗪在金银花中能够降解完全。相比 2013 年的残留结果，2014 年的农药原始沉积量与残留时间均增加和增长。由图 15 可知，与 2013 年的结果相同，两种施药剂量的消解趋势是相同的，与施药浓度呈正相关，与施药后的间隔天数呈负相关。

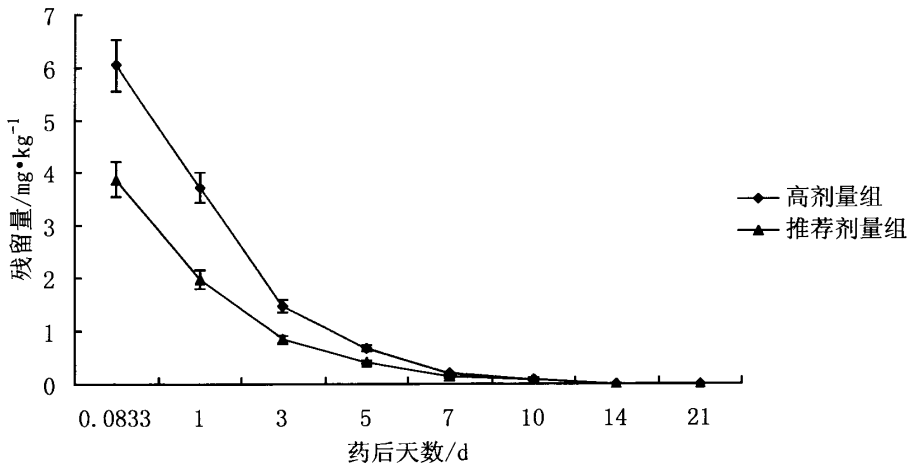


图 15 噻虫嗪在金银花中的消解动态曲线（2014 年）

Fig.15 The degradation dynamics curve of thiamethoxam in honeysuckle in 2014

2.2 噻虫嗪在金银花中的消解动态分析

噻虫嗪在金银花中的消解与很多因素有关，光解、微生物降解、生长稀释降解和化学降解等综合作用^[135,136]。一般采用一级动力学模型对农药田间消解行为进行描述： $C_t = C_0 e^{-kt}$ ，其中 C_t 为时间 t (d) 时的农药残留量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)， C_0 为施药后农药原始沉积量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)， k 为消解系数， t 为施药后时间，用农药残留量消解一半所需要的时间，即半衰期 $t_{1/2}$ ： $t_{1/2} = \ln 2/k$ ，来表示农药在金银花中的持久性。

通过两年的田间试验，对金银花喷施高、低浓度的农药噻虫嗪，对不同时间采集的金银花进行农药噻虫嗪的含量检测，考察农药噻虫嗪在不同时间内在金银花中的消

解情况。由实验结果可知，噻虫嗪在金银花中的消解动态呈一级动力学特征，消解动力学参数见表 9。

表 9 金银花中噻虫嗪的残留动态方程

Table 9 Honeysuckle residual dynamic equation in thiamethoxam

剂量组 (年)	消解动态方程	R ²	半衰期/d
高剂量组 (2013)	$Ct=5.5777e^{-0.4268t}$	0.9851	1.54
推荐剂量组 (2013)	$Ct=3.1037e^{-0.3952t}$	0.9752	1.62
高剂量组 (2014)	$Ct=7.0937e^{-0.379t}$	0.9856	1.66
推荐剂量组 (2014)	$Ct=4.6507e^{-0.3893t}$	0.9927	1.64

2013 年和 2014 年的实验表明，25%噻虫嗪水分散粒剂在金银花中的消解率在 7 d 时均达到 90%以上，半衰期为 1.54 ~ 1.66 d，噻虫嗪在金银花中消解速度较快（表 9）。由连续两年的试验结果表明，两种不同剂量的 25%噻虫嗪水分散粒剂处理 2013 年的降解速率快于 2014 年，这可能与两年的天气状况有关，试验期 2014 年干旱无雨，气候较干燥，而 2013 年有少量降水，气候较湿润，也加快了植株体内农药的流失和扩散，从而导致 2013 年噻虫嗪消解速率较快（图 16）。

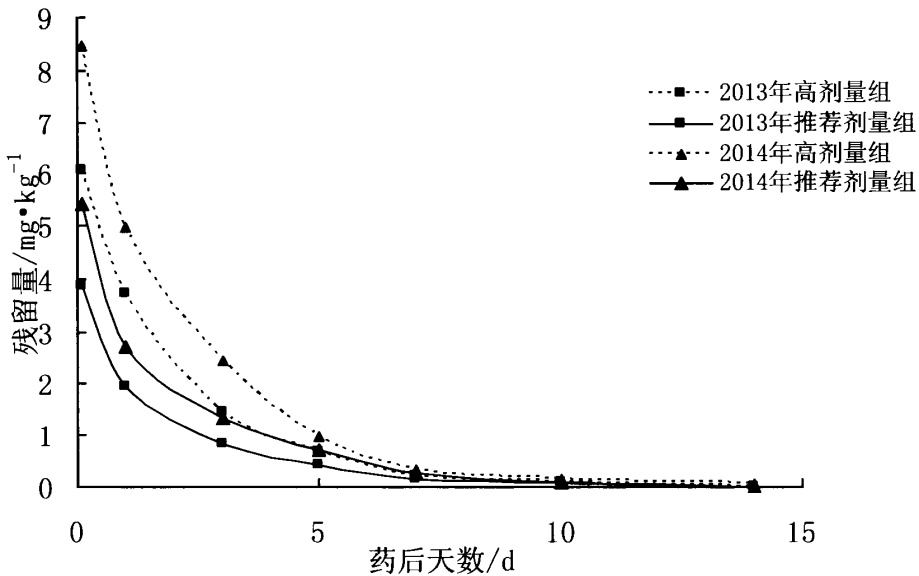


图 16 噻虫嗪在金银花中的消解动态对比

Fig.16 The degradation dynamics comparison of thiamethoxam in honeysuckle

2.3 噻虫嗪在金银花中的最终残留量分析

对两年的样品进行处理检测分析结果如表 3 所示, 噻虫嗪在金银花中的最终残留量施药后第 14 d 分别为 0.076~0.089 mg·kg⁻¹ (2013 年)、0.0818~0.098 mg·kg⁻¹ (2014 年)。结果表明, 噻虫嗪在金银花中的最终残留量与施药浓度呈正相关, 与施药后的间隔天数呈负相关。根据两年的实验结果, 随着施药次数增多, 金银花中噻虫嗪的残留量也相应增高。因此, 在 25%噻虫嗪水分散粒剂按推荐剂量和高剂量在金银花上施用不超过 3 次情况下, 安全间隔期为 14 d, 即在首次采花期前 14 d 停止施药, 以确保采花时期的金银花中不残留噻虫嗪。

表 10 噻虫嗪在金银花中最终残留量 (n=3)

Table 10 The final residue of thiamethoxam in honeysuckle (n=3)

采样距最后施药 间隔时间/d	最终残留量/ (mg·kg ⁻¹)			
	2013 年		2014 年	
	推荐剂量组	高剂量组	推荐剂量组	高剂量组
3	5.666±0.95	6.655±1.62	6.606±3.32	7.058±3.69
7	0.784±1.27	0.922±2.41	0.862±2.78	1.006±1.57
14	0.076±1.26	0.089±1.58	0.0818±2.62	0.098±0.25
21	ND	ND	ND	ND

注: ND 表示 Not detected, 即检出浓度低于最低检出浓度 0.02 mg·kg⁻¹。

3 本章小结

本研究曾考察了不同提取方式、净化方法、定容溶液等因素对供试品溶液制备的影响。结果表明, 甲醇超声震荡提取优于高速离心提取, 同时不同浓度的甲醇溶液也对提取有影响, 70%甲醇溶液提取的效果最佳; 针对样品金银花的成分复杂, 对分离结果的影响, 使用 Florisil 固相萃取柱的净化结果优于氧化铝柱和 C8 柱; 供试品溶液定容时, 使用乙腈, 会导致色谱峰出现前沿现象, 而使用流动相配比的 20%乙腈溶液, 使分离效果以及峰型较好。本研究中, 金银花中噻虫嗪质量浓度在 0.05~5.00 mg·kg⁻¹, 平均回收率为 84.91%~94.44%, RSD 均低于 4.96%, 符合农药残留分析的要求, 其分析方法的灵敏度、稳定性、精密度、重复性等均准确可靠。因此, 本研究中建立的供试品溶液制备方法、色谱条件等可推荐为金银花中噻虫嗪的农药残留检测方法。

《中国药典》(2010年版)中只规定了3种拟除虫菊酯、9种有机氯农药、12种有机磷农药残留量的检测方法,以及甘草和黄芪2种药材的六六六、DDT和五氯硝基苯的限量标准^[1],而其他农药在中药材中的最大残留限量标准(MRL)目前还未见报道。针对农药噻虫嗪,我国农业部和卫生部在2011年1月21日联合发布了食品安全国家标准《食品中百草枯等54种农药最大残留限量》(GB26130—2010),其中规定噻虫嗪在黄瓜和糙米中最大残留限量分别为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[137]。而农药合理使用准则的制定包括农药的毒性、在作物和环境中的降解速度、对防治对象的防治方法等多方面的工作。因此,制定农药合理使用准则需要进行科学、合理、规范的农药残留试验,在大量可靠数据的研究基础上,参照联合国粮农组织/世界卫生组织(FAO/WHO)或一些发达国家制定的农药最高残留限量,以及我国人口的食物结构等具体情况,才能制定出该农药在其登记代表作物上的值和安全使用准则以及防治农作物病虫害时的各项指标。

因此,针对于本研究的前期噻虫嗪对金银花蚜虫防治效果的实验评价和本章实验结果,考虑到金银花产地和农药生产厂家等的不同,噻虫嗪在金银花上的降解可能存在一定差异,建议金银花规范化种植中,施用25%噻虫嗪水分散粒剂防治金银花蚜虫时,施药剂量在 $135 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 以内,喷施3次以下,最后一次施药和收获时间的安全间隔期可推荐为14 d;建议金银花中噻虫嗪的MRL值为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

无公害中药材生产已是近年来的生产趋势,也是中药材产业的发展要求,传统的中药材栽培生产方式已经不能满足当前市场的需求。在金银花的规范化种植中,不仅要考虑物种繁育、种植技术等栽培方面的研究,更应注重对药材质量的控制^[138,139]。首先,加强田间管理,开展优良品种选育,培植抗病虫害、高产的新品种,结合生物防治、物理防治的方法,选择高效、低毒、低残留的化学农药综合有效的控制病虫害对金银花的危害,同时,也应当注重对化学农药的安全评价及使用技术等的研究。其次,优化金银花采摘和加工技术。依靠科技发展,生产机械化采摘工具,提高工作效率,降低人工成本;通过对产地加工炮制方法的优化,确保金银花在色泽、成分等方面的药材质量。最后,制定金银花药材质量标准,建立金银花规范化种植标准操作规程。以实际可操作的标准来规范,开展质量监控,促使各地金银花产业按照规范化、科学化的方向健康发展,对推进整个中药材产业的发展具有重要意义^[140,141]。

第五章 噻虫嗪对金银花药材指标成分影响的初步研究

中药材是中药产品的源头,中药材的质量安全性是影响中药产品质量和药效的关键因素,同时也是制约中药现代化和国际化发展的重要因素之一。目前我国中药材的生产中病虫害的防治以化学防治为主,然而每年登记的常用农药中没有在中药材上登记^[142],农药的使用对中药材有效成分是否有影响也很少有报道,因此,这些实际问题都需要进一步的研究和探讨。

金银花中主要含有黄酮及苷类、环烯醚萜苷类和有机酸类成分,金银花中的黄酮类成分主要有木犀草苷(木犀草素-7-O-葡萄糖苷)等,有机酸类成分主要有绿原酸等^[143,144],《中国药典》(2010版)以绿原酸和木犀草苷的含量来衡量金银花的药材质量,绿原酸($C_{16}H_{18}O_9$)不得少于1.5%,木犀草苷($C_{21}H_{20}O_{11}$)不得少于0.050%^[1]。因此,本研究通过测定金银花中这两种指标成分的含量来考察农药噻虫嗪对金银花中有效成分的影响。

金银花从孕蕾到开放约需要5~8d,大致可分为幼蕾期、三青期、二白期、大白期、银花期、金花期、凋谢期,共7个阶段,其中幼蕾长约1cm,小而成绿色;三青花蕾长约2.2~3.4cm,成绿色;二白花蕾长约3~3.9cm,成绿白色;大白花蕾长约3.8~4.6cm,成白色;银花是刚开放的百色花,长约4.2~4.8cm;金花花瓣黄色,长约4~4.5cm;凋谢的花成棕黄色。绿原酸和木犀草苷含量依次为三青>二白>大白>金花>银花,但幼蕾的质量不稳定,性状欠佳而且产量小,生产上亦选取二白期花蕾,因此,本实验取二白期花蕾为实验材料,且在第一茬花,第一茶花占年产量的60%,同时也是蚜虫为害盛期^[31,145,146]。

1 材料与方法

1.1 仪器与药剂

1.1.1 实验仪器

Waters2695型高效液相色谱仪,2996紫外检测器,色谱柱:Agilent TC-C18(4.6mm×250mm,5 μ m);高速离心机(TG16MW),KQ-250DE超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),电子分析天平(FA2004),超纯水机(Milli-Q),抽滤瓶,容量瓶、具塞三角瓶、棕色量瓶、中药粉碎机(DFT-100),恒温烘箱,背负式手动喷雾器(市下SX-LK16)。

1.1.2 实验药剂

绿原酸、木犀草苷标准品(纯度99.0%,中国药品生物制品检定所),25%噻虫嗪

水分散粒剂(先正达(中国)投资股份有限公司), 甲醇、乙腈(色谱纯), 甲醇、磷酸、乙醇、冰醋酸(分析纯), 实验用水均为超纯水。

1.2 田间试验设计

分别于2013年、2014年在中国医学科学院药用植物研究所试验基地进行田间试验, 设每个小区15株金银花, 每组处理3次重复, 不同处理间设有保护行, 小区间随机排列。田间施药期间时刻关注田间植株及天气变化情况, 并做记录。

共设推荐剂量组($90 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$)、高剂量组($135 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$)和空白对照组, 每个剂量设施药1次, 每株金银花均匀喷洒相应处理药剂300 mL。分别于施药后的2 h、1、3、5、7、10、14、21 d进行随机多点取样, 分别位于金银花植株的前、后、左、右、上、中、下等不同方位点。样品经逐步升温法烘干后于 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮存备用。

1.3 绿原酸含量测定方法学考察

1.3.1 对照品溶液制备

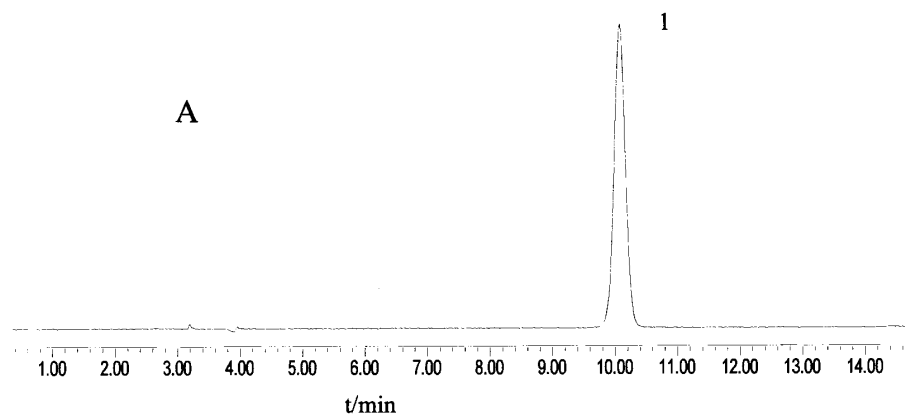
精密称取绿原酸对照品5.1 mg, 置50 mL棕色量瓶中, 加50%甲醇溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每1 mL含 $102 \mu\text{g}$ 的溶液, 即得, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

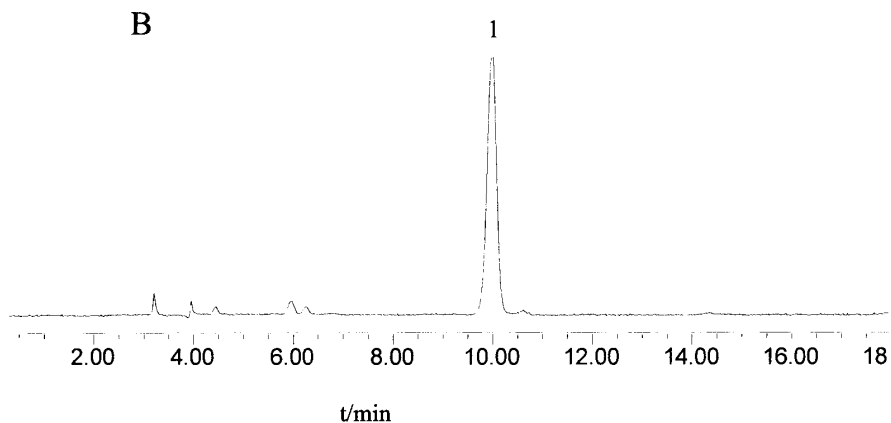
1.3.2 金银花绿原酸样品溶液制备

金银花样品过四号筛, 精密称定金银花样品的粉末0.5000g, 置具塞三角瓶中, 精密加入50%甲醇溶液50 mL, 称定质量, 超声处理(功率250 W, 频率35 kHz)30 min, 放冷, 再称定质量, 用50%甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液5 mL, 置25 mL棕色量瓶中, 加50%甲醇至刻度, 摇匀, 即得, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: Agilent TC-C18 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); 检测波长: 327 nm; 进样量: $10 \mu\text{L}$; 流动相: 乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87); 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。进样测定, 按外标峰面积法计算绿原酸的含量, 色谱图见图17。





A 标准品 B 金银花样品 1 绿原酸

图 17 绿原酸标准品和样品 HPLC 图

Fig.17 The HPLC chart of Chlorogenic acid standard and sample

1.3.4 线性关系考察

精密吸取上述对照品溶液 1、2、3、4、5 mL，置 5 mL 量瓶中，加 50% 甲醇稀释至刻度，摇匀。将各个浓度的对照品溶液进样 10 μ L 进行液相色谱分析。以绿原酸对照品质量浓度为横坐标，绿原酸峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，得线性回归方程为 $Y=19693X+89844$ ， $R^2=0.9999$ ，绿原酸在 $20.4\sim 102\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好，见图 18。

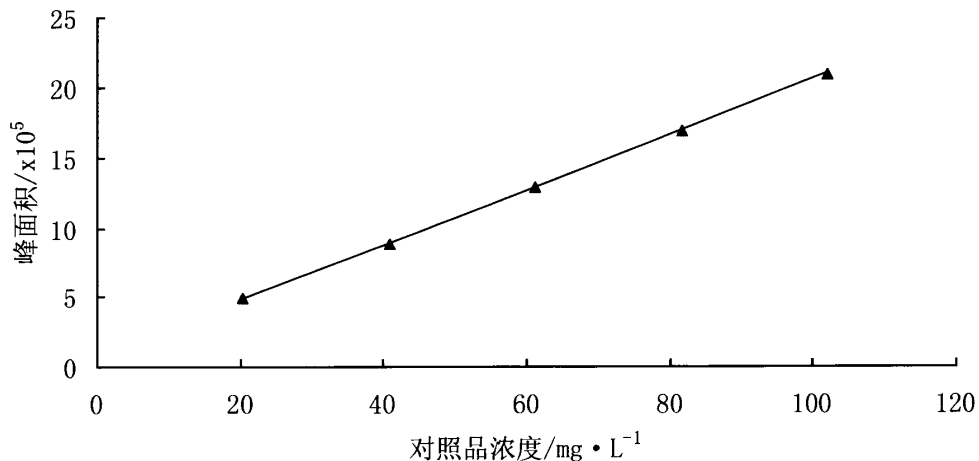


图 18 绿原酸标准曲线峰面积测定结果

Fig.18 The measurement results of Chlorogenic acid standard curve of peak area

1.3.5 精密度试验

取同一对照品溶液 ($61.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 按 1.3.1.3 色谱条件进行测定, 重复 6 次测定绿原酸峰面积, RSD 为 0.41%, 表明仪器精密度良好。

1.3.6 稳定性试验

分别取对照品溶液和供试品溶液, 于室温避光分别放置 0、4、8、12、16、24 h, 按 1.3.1.3 色谱条件进行测定, 测定绿原酸峰面积, 对照品及供试品的 RSD 分别为 1.41%, 2.25%, 结果表明对照品及供试品溶液在 24 h 内稳定。

1.3.7 重复性试验

精密称取同一批金银花样品 6 份, 按 1.3.1.3 色谱条件进行测定, 对照组样品的绿原酸平均质量分数为 2.976%, RSD 为 3.09%, 表明本实验方法重复性良好。

1.3.8 加样回收率试验

采用加样回收法, 精密称取 6 份已知含量的供试品 0.5 g, 精密加入绿原酸对照品适量 ($0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 15 mL), 按 1.3.1.2 制备供试品溶液, 并按 1.3.1.3 色谱条件进行测定, 测得绿原酸回收率均在 97% 之上, 平均回收率为 99.21%, RSD 为 1.18% (n=6), 见表 11。

表 11 金银花中绿原酸加样回收率测定结果

Table 11 The measurement results of Chlorogenic acid recoveries

样品中绿原酸 含量/mg	对照品加入量 /mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
14.90	3	17.83	97.51	99.21	1.18
14.86	3	17.84	99.31		
14.94	3	17.89	98.47		
14.89	3	17.87	99.38		
14.96	3	17.99	101.00		
14.88	3	17.87	99.59		

1.4 木犀草苷含量测定方法考察

1.4.1 对照品溶液制备

精密称取木犀草苷对照品 5.2 mg, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加 70% 乙醇溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含 208 μg 的溶液, 即得, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

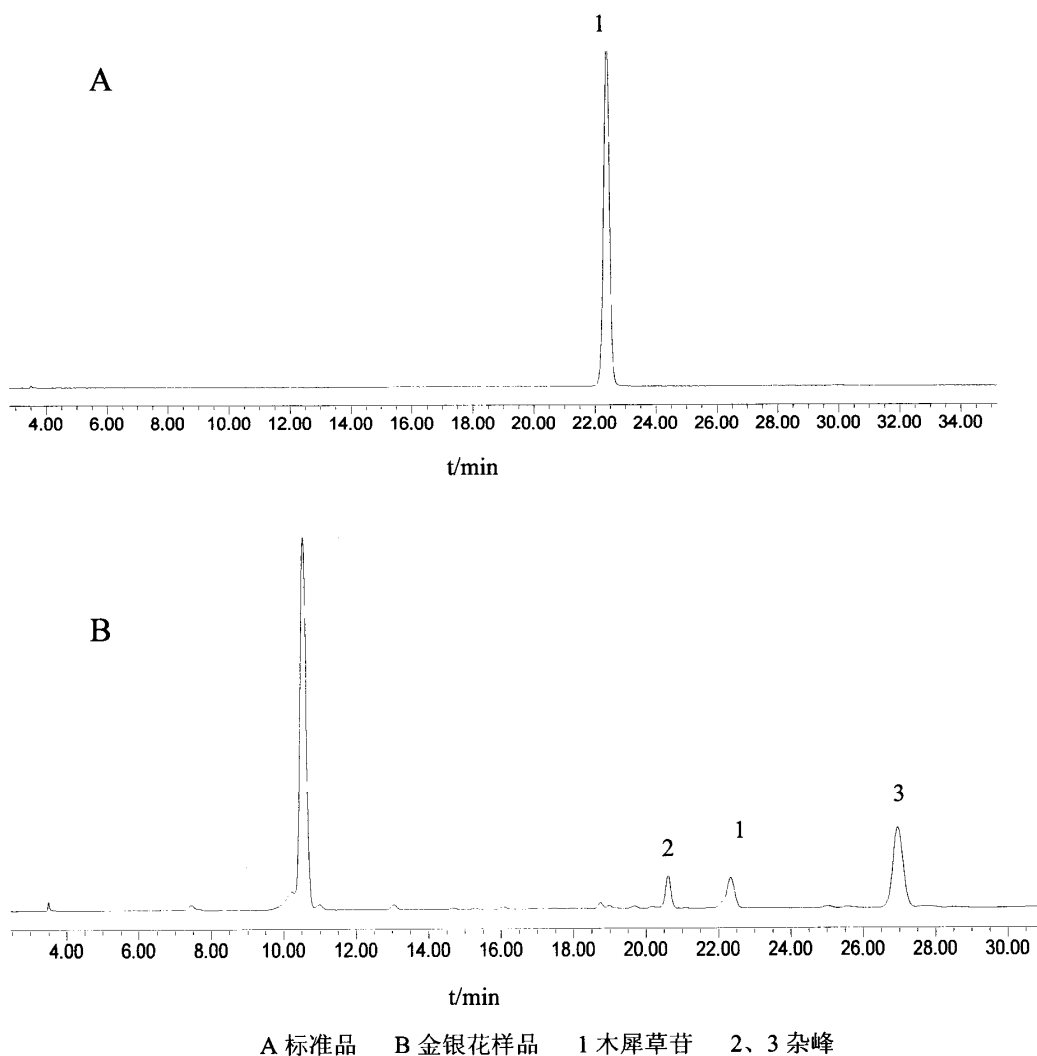
1.4.2 金银花木犀草苷样品制备

精密称定金银花样品的粉末 2.0000 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 35 kHz) 1 h, 放冷, 再称定质量,

用 70%乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，精密量取滤液 10 mL，回收溶剂至干，残渣用 70%乙醇溶解，转移至 5 mL 量瓶中，加 70%乙醇至刻度，摇匀，即得，4 ℃保存备用。

1.4.3 色谱条件

色谱柱：Agilent TC-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)；检测波长：350 nm；进样量：10 μL；流动相：乙腈为流动相 A，0.5%的冰醋酸为流动相 B，进行梯度洗脱：0~15 min，流动相 A 10%~20%；15~30 min，流动相 A 20%；30~35 min，流动相 A 20%~30%；35~40 min，流动相 A 30%；流速：1.0 mL·min⁻¹，按外标峰面积法计算木犀草苷的含量，色谱图见图 19。



A 标准品 B 金银花样品 1 木犀草苷 2、3 杂峰

图 19 木犀草苷标准品和样品 HPLC 图

Fig.19 The HPLC chart of Luteolin standard and sample

1.4.4 线性关系

精密吸取上述对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL，置 5 mL 量瓶中，加 70% 乙醇稀释至刻度，摇匀。将各个浓度的对照品溶液进样 10 μ L 进行液相色谱分析。以木犀草苷对照品质量浓度为横坐标，木犀草苷峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，得线性回归方程为： $Y=26220X-7805.3$ ， $R^2=0.9999$ ，木犀草苷在 20.8~104 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好，见图 20。

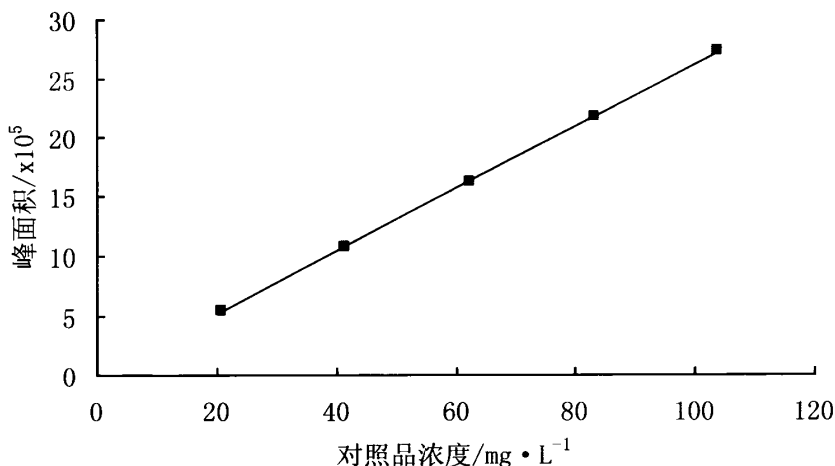


图 20 木犀草苷标准曲线峰面积测定结果

Fig.20 The measurement results of Luteolin standard curve of peak area

1.4.5 精密度试验

取同一对照品溶液 ($62.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)，按 1.3.2.3 色谱条件进行测定，重复 6 次测定木犀草苷峰面积，RSD 为 1.19%，表明仪器精密度良好。

1.4.6 稳定性试验

取对照品溶液及供试品溶液，于室温分别放置 0、4、8、12、16、24 h，按上述色谱条件进样 10 μ L，测定木犀草苷峰面积，木犀草苷对照品及样品供试品的 RSD 分别为 1.44% 和 2.75%，结果表明对照品及供试品溶液在 24 h 内稳定。

1.4.7 重复性试验

精密称取同一批金银花样品 6 份，按含量测定方法进行测定，样品的木犀草苷平均含质量分数为 0.071%，RSD 为 3.40%，表明本实验方法重复性良好。

1.4.8 加样回收率试验

采用加样回收法，精密称取 6 份已知含量的供试品 2.0000 g，精密加入适量木犀

草苷对照品 ($1.02 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 1 mL), 按 1.3.1.2 制备供试品溶液, 并按 1.3.1.3 色谱条件进行测定, 测得木犀草苷回收率均在 97% 之上, 平均回收率为 98.85%, RSD 为 1.08%, 见表 12。

表 12 金银花中木犀草苷加样回收率测定结果

Table 12 The measurement results of Honeysuckle luteoloside recoveries

样品中木犀草 苷含量/mg	对照品加入量 /mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1.4218	1.02	2.4154	97.41		
1.4216	1.02	2.4271	98.58		
1.4210	1.02	2.4469	100.58	98.85	1.08
1.4204	1.02	2.4308	99.06		
1.4209	1.02	2.4329	99.22		
1.4196	1.02	2.4215	98.22		

2 结果与分析

2.1 金银花绿原酸含量测定结果

2.1.1 2013 年金银花样品中绿原酸含量检测结果

通过对 2013 年采回的 7 批样品, 3 个小组各重复 3 次共 63 份样品, 按 1.3.1.2 制备供试品溶液, 并按 1.3.1.3 色谱条件进行测定, 测定推荐剂量组、高剂量组和空白对照组各样品金银花中绿原酸的含量, 明确噻虫嗪的施用量与绿原酸含量的关系。2013 年的样品检测结果见表 13, 各剂量组含量比较见图 21。

根据试验结果可知, 噻虫嗪高剂量组样品中绿原酸的平均含量在 2.34%~3.30%, 推荐剂量组样品中绿原酸的平均含量在 2.27%~3.15%, 而空白对照组样品中绿原酸平均含量在 2.17%~2.82%, 即施药剂量各组金银花中的绿原酸含量在药后 3 d 之后均明显高于未施用农药的对照组的。另外, 各组样品中绿原酸的含量变化趋势是相似的, 在采样间隔 7 d 和 10 d 时, 绿原酸的含量达到最高值。随着噻虫嗪剂量的增加, 绿原酸含量也呈上升趋势。

通过对 2013 年的试验结果进行方差统计与分析, 药后噻虫嗪各剂量组的金银花中的绿原酸含量与空白对照组的金银花样品的绿原酸含量相比的 P 值均大于 0.05, 无

显著性差异，不具有统计学意义。

表 13 2013 年各施药组金银花中绿原酸含量 (n=3)

Table 13 Chlorogenic acid content of each administration group in 2013 (n=3)

药后天数/d	绿原酸含量/%		
	高剂量组	推荐剂量组	对照组
1/12	2.36±1.00	2.27±2.14	2.18±3.36
1	2.58±0.19	2.43±0.76	2.45±2.99
3	2.87±0.86	2.97±2.68	2.67±3.73
5	3.03±0.38	2.99±1.46	2.82±0.98
7	3.19±0.50	3.15±1.13	2.78±1.95
10	3.30±0.21	3.06±0.90	2.68±0.85
14	2.34±0.11	2.27±7.96	2.17±6.28

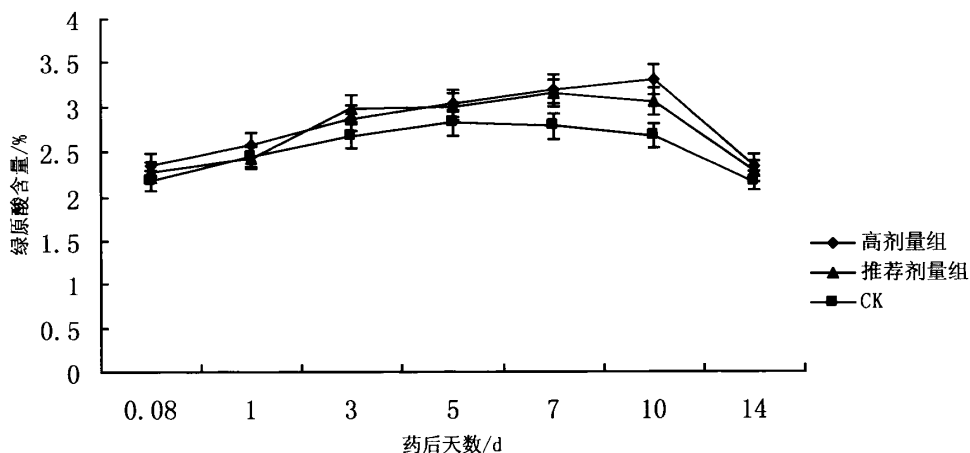


图 21 噻虫嗪对金银花中绿原酸含量影响 (2013 年)

Fig.21 Thiamethoxam impact on chlorogenic acid content in 2013

2.1.2 2014 年金银花样品中绿原酸含量检测结果

为了验证第一年的试验结果，在第一年的实验基础上优化试验设计展开第二年的重复实验，调整了施药与采样的时间。通过对 2014 年采回的 8 批样品，3 个小组各重复 3 次共 72 份样品，按 1.3.1.2 制备供试品溶液，并按 1.3.1.3 色谱条件进行测定测定推荐剂量组、高剂量组和空白对照组各样品金银花中绿原酸的含量，明确噻虫嗪的施用量与绿原酸含量的关系。2014 年样品检测结果见表 14，各药剂组样品中绿原酸含量比较见图 22。

表 14 2014 年各施药组金银花中绿原酸含量 (n=3)

Table 14 Chlorogenic acid content of each administration group in 2014 (n=3)

药后天数/d	绿原酸含量/%		
	高剂量组	推荐剂量组	对照组
1/12	2.68±1.36	2.59±0.25	2.60±1.53
1	2.71±0.85	2.61±0.50	2.66±3.74
3	3.03±0.5	2.88±0.52	2.64±4.06
5	3.20±1.62	3.02±0.75	2.77±1.49
7	3.47±1.36	3.31±0.87	2.88±1.76
10	3.76±1.16	3.44±0.62	3.03±1.23
14	3.16±0.77	3.00±0.70	2.88±2.16
21	2.58±1.71	2.50±1.10	2.17±2.53

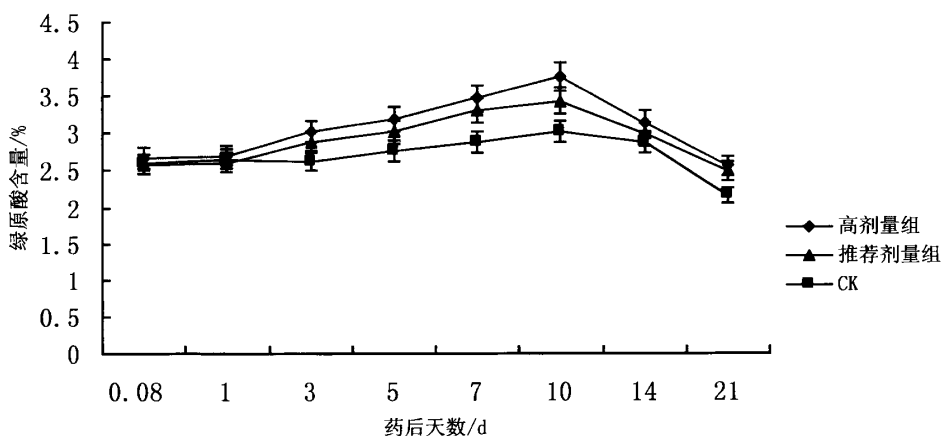


图 22 噻虫嗪对金银花中绿原酸含量影响 (2014 年)

Fig.22 Thiamethoxam impact on chlorogenic acid content in 2014

根据以上结果可知, 噻虫嗪高剂量组样品中绿原酸的平均含量在 2.58%~3.76%, 推荐剂量组样品中绿原酸的平均含量在 2.50%~3.44%, 而空白对照组样品中绿原酸平均含量在 2.17%~3.03%, 即施药剂量各组金银花中的绿原酸含量均明显高于未施用农药的对照组的。另外, 各组样品中绿原酸的含量变化趋势是相似的, 均在采样间隔 10 d 时, 绿原酸的含量达到最高值。随着噻虫嗪剂量的增加, 绿原酸含量也呈上升趋势。

通过对 2014 年的试验结果进行方差统计与分析, 药后噻虫嗪各剂量组的金银花中的绿原酸含量与空白对照组样品的绿原酸含量相比的 P 值均大于 0.05, 无显著性差

异，无统计学意义。

结合两年的试验结果，噻虫嗪对金银花中绿原酸的含量有相同的影响趋势，噻虫嗪对金银花中绿原酸的含量具有一定的促进作用，且在噻虫嗪药效明显时的促进作用更强。

2.2 金银花木犀草苷含量测定结果

2.2.1 2013 年金银花样品中木犀草苷含量检测结果

通过对 2013 年采回的 7 批样品，3 个小组各重复 3 次共 63 份样品，按 1.3.1.2 制备供试品溶液，并按 1.3.1.3 色谱条件进行测定，测定推荐剂量组、高剂量组和空白对照组各样品金银花中木犀草苷的含量，明确噻虫嗪的施用量与木犀草苷含量的关系。2013 年的样品检测结果见表 15，各剂量组样品中木犀草苷含量比较见图 23。

表 15 2013 年各施药组金银花中木犀草苷含量 (n=3)

Table 15 Luteoloside content of each administration group in 2013 (n=3)

药后天数/d	木犀草苷含量/%		
	高剂量组	推荐剂量组	对照组
1/12	0.141	0.124	0.119
1	0.089	0.114	0.138
3	0.122	0.086	0.092
5	0.130	0.114	0.136
7	0.135	0.109	0.106
10	0.116	0.118	0.138
14	0.124	0.108	0.130

根据试验结果可知，噻虫嗪高剂量组样品中木犀草苷的平均含量在 0.089%~0.141%，推荐剂量组样品中木犀草苷的平均含量在 0.086%~0.124%，空白对照组样品中木犀草苷平均含量在 0.092%~0.138%，即施药剂量各组金银花中的木犀草苷含量与未施用农药的对照组的无明显差异，且与施药剂量无关。

通过对 2013 年的试验结果进行方差统计分析，噻虫嗪推荐剂量组和高剂量组的花样样品中的木犀草苷含量与空白对照组的金银花中木犀草苷含量相比的 P 值均大于 0.05，均无显著性差异。由此说明，噻虫嗪对金银花中的木犀草苷含量没有显著影响。

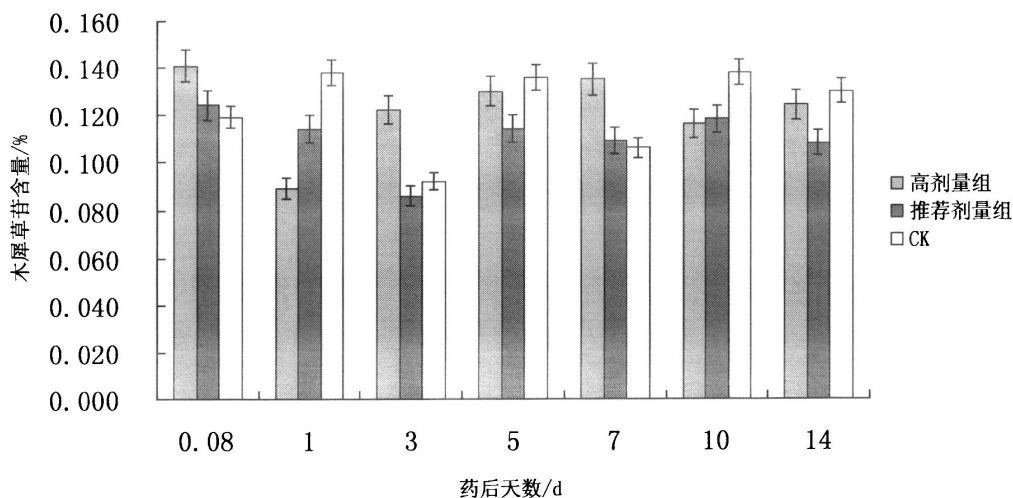


图 23 噻虫嗪对金银花中木犀草苷含量影响 (2013 年)

Fig.23 Thiamethoxam impact on honeysuckle luteolin content in 2013

2.2.2 2013 年金银花样品中木犀草苷含量检测结果

为了验证第一年的试验结果,在第一年的实验基础上优化试验设计展开第二年的重复实验,调整了施药与采样的时间。通过对 2014 年采回的 8 批样品,3 个小组各重复 3 次共 72 份样品,按 1.3.1.2 制备供试品溶液,并按 1.3.1.3 色谱条件进行测定测定推荐剂量组、高剂量组和空白对照组各样品金银花中木犀草苷的含量,明确噻虫嗪的施用量与木犀草苷含量的关系。2014 年样品检测结果见表 16,各药剂组样品中木犀草苷含量比较见图 24。

根据试验结果可知,噻虫嗪高剂量组样品中木犀草苷的平均含量在 0.094%~0.140%,推荐剂量组样品中木犀草苷的平均含量在 0.099%~0.138%,空白对照组样品中木犀草苷平均含量在 0.093%~0.136%,即施药剂量各组金银花中的木犀草苷含量与未施用农药的对照组的无明显差异,且与施药剂量无关。

通过对 2014 年的试验结果进行方差统计分析,噻虫嗪推荐剂量组和高剂量组的金银花样品中的木犀草苷含量与空白对照组的金银花中木犀草苷含量相比的 P 值均大于 0.05,均无显著性差异。同 2013 年的试验结果相同,噻虫嗪对金银花中的木犀草苷含量没有显著影响。

表 16 2014 年各施药组金银花中木犀草苷含量 (n=3)

Table 16 Luteoloside content of each administration group in 2014 (n=3)

药后天数/d	木犀草苷含量/%		
	高剂量组	推荐剂量组	对照组
1/12	0.112	0.125	0.136
1	0.110	0.138	0.132
3	0.133	0.099	0.110
5	0.114	0.116	0.136
7	0.094	0.133	0.093
10	0.128	0.088	0.127
14	0.140	0.121	0.135
21	0.122	0.130	0.105

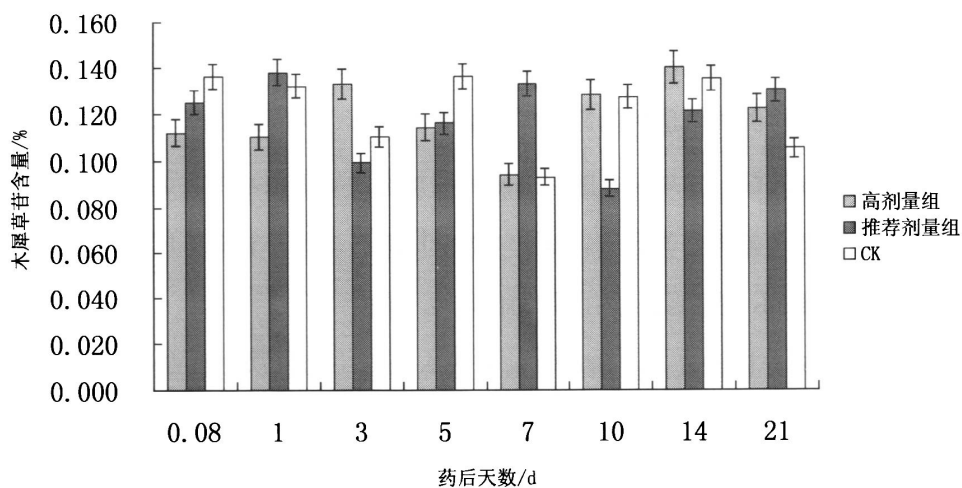


图 24 噻虫嗪对金银花中木犀草苷含量影响 (2014 年)

Fig.24 Thiamethoxam impact on honeysuckle luteolin content in 2014

3 本章小结

近年来,国内在研究金银花指标成分上多尝试同时测定二者的含量,但分析方法并不成熟。辛华等^[147]研究了 HPLC 同时测定不同产地金银花中的绿原酸和木犀草苷,

闵春艳等^[148]通过正交试验研究同时测定金银花中绿原酸和木犀草苷含量的提取工艺方法,因此,在试验前期采用高效液相色谱法同时测定金银花中绿原酸和木犀草苷的含量,分别用 50%甲醇、70%甲醇、50%乙醇、70%乙醇作为提取溶剂对样品进行处理和检测,但是结果与分开检测二者的含量有差异。在二者的化学结构、性质以及生物活性等不同的情况下,提取溶剂和提取方法的不同会导致二者含量测定具有一定的误差。因此,考虑到定量试验的严谨性选择分别进行金银花有效成分绿原酸与木犀草苷含量的检测。

本研究主要参考《中国药典》(2010 版)中检测方法测定金银花中绿原酸和木犀草苷的含量^[1]。此方法简单易操作,二者方法的稳定性、重复性、精密度和线性回归均良好。绿原酸的平均添加回收率为 99.21%,RSD 为 1.18%;木犀草苷的平均添加回收率为 98.85%,RSD 为 1.08%,并且高效液相色谱检测时出峰早,峰型好,检测结果稳定可靠。

根据本研究两年的结果,在试验期内,噻虫嗪对金银花中绿原酸的含量有一定的影响,且根据检测含量值可知施药后含量有所升高;而噻虫嗪对木犀草苷的含量没有显著影响。绿原酸与木犀草苷的含量随时间均有一定的波动性,这可能与采样的均匀性有关,但总体趋势是明显的。噻虫嗪对绿原酸与木犀草苷的不同影响,可能与二者的代谢途径不同,在植物体内所起的作用也不同。

中药材成分比较复杂,所以目前有关农药对中药材次生代谢产物影响的研究较少,没有得到足够的重视。刘铁城等^[149]研究 7 种杀菌剂对西洋参 *Panax quinquefolium* L.根腐病(*Fusarium solani*)的防治效果,发现用不同药剂处理土壤西洋参根中总皂苷的含量不同。沈一行等^[150]研究了内吸性杀菌剂敌克松对毛花曼陀罗 *Datur ainnoxia* Mill 及曼陀罗 *D. metal* L.生物碱量的影响,发现喷施敌克松后曼陀罗花和叶中的莨菪碱的量显著下降。马永亮等^[151]研究了氧化乐果、吡虫啉和苦参碱作为胁迫因子,结果表明,供试农药对大叶黄杨蜡质层含量均有显著影响,其中以氧化乐果影响较大,其次是吡虫啉,苦参碱影响较轻,3 种农药均导致大叶黄扬蜡质层含量降低。傅晓燕等^[152]研究了双氧水降解残留农药效果及对苦参有效成分的影响,结果显示苦参药材经双氧

水短时间处理，其生物碱成分影响不明显，但受反应液 pH 条件影响较大。

新烟碱类杀虫剂除具有杀虫生物活性外，同时还可增强植物对生物/非生物胁迫的耐受力，如提高植物抗干旱、抗盐以及其系统获得性抗性(SAR) 等植物生命活力(plant vigor) 的能力。Ford 等^[153]研究发现，吡虫啉和噻虫嗪及其在植物中的代谢物 6-氯吡啶-3-羧酸和 2-氯噻唑-5-羧酸(CTA) 可诱导拟南芥中与水杨酸相关的植物防御功能。通常认为，绿原酸是植物保护素之一，具有较好的抗菌作用，金银花植株在受到外物侵害后，绿原酸含量有所提高，这是其抗御伤害进行自我保护的机制之一^[143,154]。内吸性杀虫剂噻虫嗪喷施到金银花上以后，可能对植株产生一定刺激，而使其次生代谢发生一些改变，使绿原酸含量升高，但其具体机理还需进一步研究。农药对药材成分影响的研究比较复杂，本试验测定的绿原酸、木犀草苷是药典明确规定的金银花的指标成分，噻虫嗪对其他成分是否有影响需要进一步研究。

第六章 结论

1. 结论

本文主要是对噻虫嗪防治金银花蚜虫的防效进行评价, 建立其在金银花药材中农药残留检测方法, 分析其在金银花药材中消解动态, 以及噻虫嗪对金银花药材有效成分影响进行研究, 进而提出金银花规范化种植中噻虫嗪安全使用标准建议, 为金银花规范化种植中农药安全使用标准的建立提供科学依据。具体结论如下:

1. 通过对金银花主产地进行金银花病虫害发生及农药施用现状的调查, 对金银花主产区的种植栽培现状、病虫害发生及农药施用现状等方面有了较全面了解。蚜虫是为害金银花的主要害虫, 种植户多使用吡虫啉、噻虫嗪等防治害虫; 农药施用相对混乱, 高效、低毒、低残留农药还有待推广, 金银花规范化、科学化生产急需加强。

2. 噻虫嗪防治金银花蚜虫田间药效试验表明, 25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花施用安全, 适宜防治金银花蚜虫, 且适宜在四季花和大毛花品种上使用。25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液、10000 倍液的防治效果较好, 持效期较长, 有一定的内吸渗透作用。通过两年两地的试验结果, 25%噻虫嗪水分散粒剂 5000 倍液、10000 倍液对金银花蚜虫的防治效果较好, 与调查中常使用的吡虫啉药剂相比, 有相似或者更佳的防治效果, 因此, 生产上推荐使用 25%噻虫嗪水分散粒剂 10000~5000 倍液防治金银花蚜虫, 噻虫嗪在金银花蚜虫防治上具有良好的应用前景。

3. 本研究首次建立了噻虫嗪在金银花药材残留分析方法, 样品前处理方法简单, 通过甲醇超声提取, 二氯甲烷萃取、Florisil 柱净化; 色谱条件为流动相为 V (乙腈): V (水) = 20:80, 检测波长 253 nm; 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 进样量: 10 μl, 噻虫嗪的保留时间较短, 峰型较好。且方法的线性相关性良好, 回收率、精密度、重复性、稳定性均符合农药残留分析的要求, 噻虫嗪回收率为 84.91%~94.44%, RSD 均低于 4.96%。

应用上述方法测定了噻虫嗪在金银花中的消解动态和最终残留量, 两年结果表明, 噻虫嗪在金银花中消解动态呈一级动力学特征, 噻虫嗪在金银花半衰期为 1.54~1.66 d, 施药后 7 d, 消解达 90%以上, 农药噻虫嗪在金银花中消解速度较快。

噻虫嗪在金银花中最终残留量与施药浓度呈正相关,与施药间隔天数呈负相关,且随着施药次数增多,金银花中噻虫嗪的残留量也相应增高。因此,在25%噻虫嗪水分散粒剂按高剂量在金银花上施用不超过3次情况下,安全间隔期为14d,即在首次采花期前14d停止施药,以确保采花时期的金银花中不残留噻虫嗪。

4. 初步研究了施用不同剂量噻虫嗪对金银花中绿原酸和木犀草苷含量的影响,两年实验结果表明,噻虫嗪高剂量组和推荐剂量组金银花样品中绿原酸的含量与对照组有影响,但无显著性差异,而噻虫嗪两种药剂组与对照组的木犀草苷含量没有影响,没有显著性差异,说明噻虫嗪对金银花中绿原酸的含量有一定的影响,且施药后含量有所升高,噻虫嗪对木犀草苷的含量没有显著影响。绿原酸与木犀草苷的含量随时间均有一定的波动性,这可能与采样的均匀性有关,但总体趋势是明显的。噻虫嗪对绿原酸与木犀草苷的不同影响,可能与二者的代谢途径不同,在植物体内所起的作用也不同。

5. 我国尚未规定噻虫嗪在金银花中最大残留限量(MRL),农业部和原卫生部在2011年1月21日联合发布了食品安全国家标准《食品中百草枯等54种农药最大残留限量》(GB26130—2010),其中规定噻虫嗪在黄瓜和糙米中最大残留限量(RML)分别为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。根据本研究结果,农药噻虫嗪在金银花中残留消解情况,在25%噻虫嗪水分散粒剂按高剂量($135\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}$)使用,施药3次,药后14d已达到要求。考虑到金银花产地和农药生产厂家不同,噻虫嗪在金银花上降解可能存在一定差异,再根据噻虫嗪对金银花蚜虫防治效果实验评价、以及对金银花指标成分影响的结果,建议金银花规范化种植中,金银花中噻虫嗪MRL值为 $0.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;施用25%噻虫嗪水分散粒剂防治金银花蚜虫时,建议施药剂量在 $135\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}$ 以内,喷施3次以下,最后一次施药和收获时间的安全间隔期推荐为14d。

2. 思考与建议

目前我国上百种中药材的种植中,仍以化学防治为主对病虫害进行防治,例如金银花、西洋参、枸杞、人参、龙胆、大黄等,但在登记的众多化学农药中并没有在相关中药材上明确规定和说明,导致农药在中药材上使用不规范,中药材农药残留问题严重和突出。并且化学农药对中药材的某些成分(包括药典指标成分和其他成分)

会产生一定影响，进而直接影响到中药材的药效及其安全性。本研究通过前期对金银花主产区实地调研，了解到产区生产中农药使用的不规范现状，及其对金银花产业发展的威胁。因此，农药对中药材质量安全性影响的研究是中药材产业发展的必然要求，同时也具有重大的现实意义。

本研究在进行噻虫嗪在金银花中消解动态试验设计时，为了与生产与市场贴近，选用金银花干燥后样品作为检测对象，经思考，可以将金银花鲜样和干样均进行残留检测分析，对比二者检测结果。若有差异，可以考虑样品在加工过程中通过不同加工方式降低农药在金银花中残留量；同时，可以解决金银花现处于蕾期、采收期时，蚜虫等虫害严重爆发时，难以防治情况下，保证金银花药材质量优良和产量稳定。

中药材的“道地性”体现了环境对中药材药效的影响和作用，而化学农药作为环境中的非生物因子之一，对中药材植物生长产生作用的同时也产生其他影响。植物体内次生代谢产物积累与生长的环境条件息息相关。植物次生代谢产物是在进化过程中提高其自身保护和竞争能力、协调与环境关系的重要物质，它的产生和变化比初生代谢产物与环境有着更强的相关性，因此，在研究植物与环境之间关系应从次生代谢角度开展，探讨中药材植物与环境的相互关系。在国内外次生代谢研究的基本理论的基础上，研究药用植物有效成分的积累规律，探讨农药对药材质量安全性，可能是影响植物次生代谢，或是农药通过对害虫防治进而对植物产生间接的生物因子等等。为此，建议做进一步的深入研究，进而为建立金银花药材质量评价体系提供理论依据。

今后拟继续开展的工作具体如下：

1. 研究农药噻虫嗪在金银花鲜样中残留动态的情况，分析其与在金银花干样中残留动态的差异。
2. 研究农药噻虫嗪对金银花中其他成分含量的影响，综合评估噻虫嗪对金银花药材质量安全性。
3. 研究农药噻虫嗪与金银花次生代谢的关系，次生代谢产物的代谢途径以及金银花有效成分，特别是绿原酸的积累规律研究。
4. 分析和比较蚜虫为害前后金银花基因的差异表达，探讨蚜虫刺吸对金银花有效药用成分合成关键基因，以及蚜虫防御关键基因表达的影响。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典·一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010.
- [2] 郭巧生. 药用植物栽培学[M]. 北京:高等教育出版社,2004.
- [3] 张永清,李岩坤,程炳嵩. 金银花栽培研究概况[J]. 山东中医杂志,1992,11(5):50-52.
- [4] 赵东岳,李勇,丁万隆. 我国金银花栽培品种的遗传多样性[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2011,13(4):650-653.
- [5] 丁万隆. 药用植物病虫害防治彩色图谱[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- [6] 孙莹,刘磊,李朝霞.等. 山东省金银花主要害虫的发生和综合防治技术[A]. 2014 年中国植物保护学会学术年会论文集[C]. 2014.
- [7] 孙莹,薛明,张晓.等. 金银花蚜虫的发生与防治技术研究[J]. 中国中药杂志,2013,(21):3676-3680.
- [8] 王瑞娟,张立秋. 金银花的主要病虫害及其防治[J]. 河北林业科学, 2006,(5):66-67.
- [9] 姜敏,邵明果,赵伯林.金银花尺蠖的生物学特性及防治技术[J]. 山东林业科技,2005,156(1):62-63.
- [10] 姚银花,侣胜利,郑福山. 药用植物金银花病虫害种类及综合防治[J]. 凯里学院学报,2008,26(3):56-59.
- [11] 孙莹. 金银花主要害虫发生和防治技术研究[D]. 山东:山东农业大学,2013.
- [12] 任应党,刘玉霞,申效诚. 忍冬细蛾——危害金银花的中国昆虫新记录[J]. 昆虫分类学报,2003,25(3):235-236.
- [13] 李冰,魏新田. 金银花病虫害的识别症状及防治方法[J]. 现代农业科技,2012,(22):134.
- [14] 任应党,刘玉霞,申效诚.等. 金银花主要病虫害及防治[J]. 河南农业科学,2004, (9): 66-68.
- [15] 向玉勇,朱园美,赵怡然.等. 安徽省金银花害虫种类调查及防治技术[J]. 湖南农业大学学报,2012,38(3):291-295.
- [16] 褚树杰. 金银花常见害虫防治[J]. 安徽林业, 2008, (1): 52.
- [17] 李正茂,夏永刚,周刚.等. 湖南金银花病虫害防治现状及对策[J]. 中国农村小康科技,2010, (12): 66-68.
- [18] 易思荣,申明亮,黄娅.等. 中药材金银花常见病虫害综合防治技[J]. 亚太传统医药,2011,7(7):23-25.
- [19] 付利娟. 重庆市中药材病虫害发生现状及防治对策[J]. 植物医生,2010,23(4):25-27.
- [20] 张应,李隆云. 秀山灰毡毛忍冬病虫害发生及防治情况[J]. 植物医生,2011,24(6):20-21.
- [21] 简美玲,郑基煊,毛润乾. 广东省金银花主要病虫害调查初报[J]. 广东农业科学, 2011,(14):74-75.

- [22] 欧善生,苏桂花,谢恩倍,等. 广西金银花主要病虫及天敌昆虫消长规律研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(15): 8995-8997.
- [23] 曾令祥. 金银花主要病虫害及防治技术[J]. 贵州农业科学, 2004, 32(4): 68-70.
- [24] 王广军. 金银花贮藏期的害虫防治[J]. 中国植保导刊,2005,25(11):42-43.
- [25] 黄晓磊,乔格侠. 蚜虫类昆虫生物学特性及蚜虫学研究现状[J]. 生物学通报,2005,40(11):5.
- [26] 陈其瑚,俞水炎. 蚜虫及其防治[M]. 上海:上海科学技术出版社,1988,86.
- [27] 王广军,张国彦,王江蓉. 金银花尺蠖的发生规律与防治技术[J]. 中国植保导刊,2005,25(3):22-23.
- [28] 倪云霞,刘新涛,刘玉霞,等. 金银花尺蠖的药剂防治[J]. 河南农业科学,2006,(12):78-79.
- [29] 刘清琪,张俊林,李庆水,等. 咖啡虎天牛为害金银花的初步研究[J]. 中药材科技,1981,4(2):18-19.
- [30] Chen, J.M.. Observation of antennal sensilla in *Xylotrechus grayii* (Coleoptera : Cerambycidae) with scanning electron microscopy [J]. *Microsc Res Tech*, 2014,77(4):264-273.
- [31] 王广军,杨建丽,高国华. 金银花病虫害综合防治技术[J]. 河南农业科学, 2003, (9): 69-70.
- [32] 冉风英,刘珍. 金银花田蛴螬重发原因及防治对策[A]. 河南省植物保护研究进展 II (下)[A]. 2007.
- [33] 于广胜. 金银花主要病虫害危害特点及防治措施[J]. 中国林副特产, 2011, (3): 59-60.
- [34] 王宗卿. 柳干木蠹蛾、豹蠹蛾在金银花上的农业防治[J]. 齐鲁鲁事,1986,(2):30.
- [35] 韩乾,高俊国,朱明明. 柳干木蠹蛾的发生与防治[J]. 现代农村科技,2013,(12):34.
- [36] 赵本忠. 豹纹木蠹蛾生物学特性及防治研究初报[J]. 林业调查规划,2006,(S2):174-177.
- [37] 范银君,史雪岩,高希武. 新烟碱类杀虫剂吡虫啉和噻虫嗪的代谢研究进展[J]. 农药学报,2012,14(6):587-596.
- [38] Jeschke P, Nauen R, Schindler M, *et al.* Overview of the status and global strategy for neonicotinoids[J]. *J of Agr and Food Chem*, 2011, 59(7): 2897-2908.
- [39] Karmakar R and Kulshrestha G Persistence, metabolism and safety evaluation of thiamethoxam in tomato crop[J]. *Soci Chem Indus*, 2009, 65: 931-937.
- [40] Macedo W R, Araújo D K, de Camargo e Castro P R. Unravelling the physiologic and metabolic action of thiamethoxam on rice plants[J]. *Pesticide Biochem Physio*, 2013, 107: 244-249.
- [41] 陈轶,朱黎明,孙月芳,等. 25%噻虫嗪水分散粒剂(阿克泰)防治杭白菊蚜虫试验[J]. 农药科学与管理,2004,25(5):10-11.
- [42] 杨向黎,王绍敏,韩凤英,等. 噻虫嗪等杀虫剂对紫花苜蓿叶蝉田间药效分析[J]. 农药,2012,51(5):385-386.
- [43] 梁娟,李树香,黄小华. 5%噻虫嗪水乳剂防治稻飞虱田间药效试验[J]. 热带农业科

- 学,2011,31(6):18-20.
- [44] 曲淑珍,赵晓华,吴玉敏. 35%噻虫嗪悬浮种衣剂防治灰飞虱和玉米粗缩病试验研究[J].现代农业科技,2014,(4):118-120.
- [45] 王森山,王婧,朱亚灵. 25%阿克泰水分散剂对温室白粉虱和苹果黄蚜的药效试验[J].农药,2003,42(12):30-31.
- [46] 闫冉冉,渠成,薛明,等. 新烟碱类药剂灌根防治花生田暗黑鳃金龟幼虫研究[J].中国植保导刊,2014,34(1):60-63.
- [47] 郭建国,刘永刚,张海英,等. 70%噻虫嗪种子处理可分散粉剂和 10%吡虫啉可湿性粉剂拌种对马铃薯甲虫的防效[J]. 植物保护,2010,36(6):151-154.
- [48] 黄诚华,黄冬发,潘雪红,等. 噻虫嗪防治甘蔗蓟马的药效试验[J]. 中国糖料,2010,(4):35-36.
- [49] 程霞. 第二代新烟碱类杀虫剂噻虫嗪的开发[J]. 世界农药,2001,23(4):17-24.
- [50] 高德霖. 化学杀虫剂的新成就——噻虫嗪[J]. 精细化工化纤信息通讯,2002,(2):2-5.
- [51] Peter Maienfisch, Max Angest, Franz Brandl, et al. Chemistry and biology of thiamethoxam :a second generation neonicotonioid [J]. *Pest Management Science*, 2000,57(10):906-913.
- [52] 陶贤鉴,黄超群,罗亮明. 新一代烟碱类杀虫剂--噻虫嗪的合成研究[J]. 现代农药,2006,5(1):11-13.
- [53] Ralf Nauen, Ulrich Ebbinghaus-Kintscher, Vincent L.Salgado, et al. Thiamethoxam is a neonicotonioid precursor converted to chlothianidin in insects and plants [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*,2003,76:55-69.
- [54] 范银君,史雪岩,高希武. 新烟碱类杀虫剂吡虫啉和噻虫嗪的代谢研究进展[J]. 农药学报,2012,14(6):587-596.
- [55] Jeschke P, Nauen R, Schindler M, et al. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids[J]. *J Agr Food Chem*, 2011, 59(7):2897-2908.
- [56] 杨吉春,李森,柴宝山,等.新烟碱类杀虫剂最新研究进展[J].农药,2007,46(7):433-438.
- [57] 陈美艳,陈君,李昆同,等.吡虫啉对金银花绿原酸含量影响的初步研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2006,8(6):54-57.
- [58] Linda M. Field and Alan L Devonshire, Structure and organization of amplicons containing the E4 esterase genes responsible for insecticide resistance in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer)[J], *Biochem.*,1997, 322: 867-871.
- [59] 吴青君,徐宝云,张友军,等. 噻虫嗪不同处理方法对烟粉虱的毒力及药效评价[J]. 农药学报,2003,5(4):70-74.
- [60] 郭建国,张海英,吕和平,等. 噻虫嗪和吡虫啉拌种对马铃薯甲虫幼虫生长发育的影响[J]. 植物保护学报,2011,38(2):191-192.

- [61] 钱传范. 农药残留分析原理和方法[M]. 化学工业出版社,1996:15-21.
- [62] 刘艳平. 中药中农药残留检测方法研究[J]. 中国实用医药,2013;8(32):267-268.
- [63] 杨美华,杨丽楠. 中药材农药残留检测及脱除技术研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2008;10(1):107-112.
- [64] 刘海涛,张本刚,陈建民,等. 中药中农药残留的分析及其新技术的研究进展[J]. 化中国中药杂志,2006,22(1):24-27.
- [65] 黄骏雄. 环境样品前处理技术及其进展(一) [J]. 环境化学,1994,01:95-104.
- [66] 褚中秋. 农药残留分析前处理技术概述[J]. 生命科学仪器,2013;12(11):30-32.
- [67] 李申杰. 中草药中有机农药残留和重金属分析方法研究[D]. 南昌:南昌大学分析化学,2007.
- [68] 毛雪金. 气相色谱法在中草药中多种农药残留分析中的应用研究[D]. 南昌:南昌大学分析化学,2010.
- [69] 万益群,李申杰,鄢爱平. 白术中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留量的测定[J]. 分析科学学报,2007,23(3):299-302.
- [70] 李雪梅,周围. 微波辅助萃取法提取中药材中有机氯农药残留[J]. 化工进展,2006,25(11):1340-1344.
- [71] 曾鑫,柏连阳. 农产品中农药残留检测技术研究进展和发展方向[J]. *Joumai of Anhui Agri.Sci.*2011,39(26):16456-16457.
- [72] Garcia R, Cabrita MJ, Freitas AMC. Application of Molecularly Imprinted Polymers for the Analysis of Pesticide Residues in Food—A Highly Selective and Innovative Approach [J]. *Am J Anal Chem*, 2011, 2(8): 16-25.
- [73] 姜俊,李培武,谢立华,等. 固相萃取-全二维气相色谱/飞行时间质谱同步快速检测蔬菜中 64 种农药残留[J]. 分析化学,2011, 39(1): 72-76.
- [74] 刘浩. 中药农药残留分析中的固相萃取技术及其研究进展 [J]. 时珍国医国药,2010,21(8):2114-2116.
- [75] 张焱岫. 农药残留检测的前处理技术 [J]. 现代农业科技,2011,(2):27-28.
- [76] 孙洁. 果蔬中啮菌酯残留的气相色谱分析方法研究[D]. 甘肃:甘肃农业大学营养与食品卫生学,2007.
- [77] 王升吉,杨崇良,尚佑芬,等. 免疫分析法在农药残留检测中的应用及前景[J]. 山东农业科学,2005,(4):72-75.
- [78] 盛静,管健,屠婕红,等. 气相色谱-质谱联用法测定杭白菊中 32 种残留农药[J]. 中草药,2008,(10):1568-1572.
- [79] Anastassiades M, Lehotaý SJ, Stajnbaher D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of

- pesticide residues in produce [J]. *J Aoac Int*, 2003, 86(2): 412-431.
- [80] Pareja L, Cesio V, Heinzen H, et al. Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC-MS/MS[J]. *Talanta*, 2011, 83(5): 1613-1622.
- [81] Li J, Dong F, Xu J, et al. Enantioselective determination of triazole fungicide simeconazole in vegetables, fruits, and cereals using modified QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) coupled to gas chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 702(1): 127-135.
- [82] 胡秋菊,朱若华,苏文斌,等. 中药材中西维因残留量的薄层色谱法测定[J]. 首都师范大学学报(自然科学版),2004,25(2):38.
- [83] 孙丽华,周彦刚. 反相离子对 HPLC 法测定中药材中苯并咪唑类农药残留的研究[J]. 中药卫生检验杂志,2007,17(1):6-8.
- [84] Zhao C J, Hao G M, Li H X, et al. Supercritical fluid extraction for the separation of organochlorine pesticides residue in *Angelica sinensis*[J]. *Biomed Chromatogr*,2002,16(7):441.
- [85] 万益群,谢明勇. 毛细管气相色谱法测定中药中有机磷农药残留量[J]. 分析科学学报,2005,21(3):286.
- [86] Jansson C, Pihlström T, Osterdahl B G, et al. A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1023(1):93.
- [87] 吴永江,朱炜,程翼宇. 液-质联用法测定铁皮石斛和西洋参及制剂中多菌灵残留[J]. 分析化学, 2006,34(2):235.
- [88] Hengel M J, Shibamoto T. Gas chromatographic - mass spectrometric method for the analysis of dimethomorph fungicide in dried hops[J]. *J Agric Food Chem*,2000,48(12):582.
- [89] 吴永江,朱炜,程翼宇. 气相色谱-质谱联用检测中药材中 16 种残留农药[J]. 中国药学杂志,2006,41(19):1497-1501.
- [90] 黄宝美,郑妍鹏,李学,等. 毛细管电泳法测定青菜中敌百虫的残留量[J]. 分析试验室,2003,(23)3:1.
- [91] Lee J K, Park S H, Lee E Y, et al. Optimization of a solid-phase microextraction procedure for the determination of herbicides by micellar electrokinetic chromatography[J]. *J Sep Sci*,2004,27(9): 660.
- [92] EL-Saeid, Mohamed H. Pesticide residues in canned foods, fruits, and vegetables: The application of supercritical fluid extraction and chromatographic techniques in the analysis[J]. *Sci World*, 2003,3:1314.

- [93] Ling Y C, Teng H C, Cartwright. Supercritical fluid extraction and clear-up of organochlorine pesticides in Chinese Herbal medicine[J]. *Chromatoger*, 1999, 835(1-2):145.
- [94] 张莹, 杨大进, 方从容. 农药残留量快速检验方法. 农药速测卡的应用与研究[J]. 中国食品卫生杂志, 1998, 10(2):12-14.
- [95] 陆贻通, 周培, 李振红. 生物酶技术在农药残留快速检测中的应用进展[J]. 上海环境科学, 2001, 20(10): 467-470.
- [96] 刘永杰, 张金振, 曹明章, 等. 酶抑制法快速检测农产品农药残留的研究与应用[J]. 现代农药, 2004, 3(2): 25-27.
- [97] 王振国, 宋广文, 王君双. 食品农药残留免疫学技术检测[J]. 吉林农业大学学报, 1997, 19(3):113-120.
- [98] 王艳, 高志贤, 戴树桂. 农药残留免疫分析方法及研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(1): 125-127.
- [99] 孙大凡, 叶非. 酶免疫分析技术在农药残留中的应用[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2003, 15(2): 101-104.
- [100] 杨曼君. 农药残留的免疫分析法[J]. 农药科学与管理, 1996, 17(4):22-23.
- [101] 周培, 陆贻通. 农药残留的酶联免疫检测技术研究进展[J]. 环境污染与防治, 2002, 24(4):248-251.
- [102] 赵云峰, 吴永宁. 农药残留免疫分析进展[J]. 国外医学卫生学册, 1997, 24(2):116-118.
- [103] 李颖娇, 张荣全, 叶非. 生物传感器在农药残留分析中的应用[J]. 农药科学与管理, 2003, 24(8): 11-13.
- [104] 程文杰. 食品中农药残留检测技术研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(2):527-536.
- [105] 苗青, 孔文军, 魏建和, 等. 中药材中农药残留现状及控制措施评析[J]. 农药学报, 2012, 14(4):363-370.
- [106] 《农药合理使用准则》(一~七)[S]. GB/T8321.1~8321.7, 2005.
- [107] 张艳, 程淑华, 陈梅红. 三氯杀螨醇在枸杞中的残留动态研究[J]. 宁夏农林科技, 1999, (1):41.
- [108] 金钺. 大青叶生产中农药安全使用标准研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2010.
- [109] 楼健. 百菌清在中药材浙贝上的残留动态研究[J]. 农药学报, 2004, 4(2):93.
- [110] 刘海涛, 刘洪科, 薛健, 等. 龙胆规范化种植中农药世高安全使用标准的研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18):2096-2098.
- [111] 邵清松, 刘洪波, 张雨韵, 等. 金线莲栽培中多菌灵残留动态及安全使用标准研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(9):1559-1662.
- [112] 林建, 魏厚道, 王天玉, 等. 白术规范化种植中农药多菌灵安全使用标准的研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(13):1674-1678.

- [113] 孙楠,薛健. 金银花规范化种植中农药啶虫脒安全使用标准的研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(9):2089-2090.
- [114] 孙楠,薛健,刘海涛. 金银花栽培中农药三唑酮安全使用标准的研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(13):1351-1352.
- [115] 陈美艳,于晶,陈君,等. 吡虫啉在枸杞中的残留动态研究[J]. 药物分析杂志,2008,28(2):227-230.
- [116] 姜会飞. 金银花[M]. 北京:中国中医药出版社,2001.
- [117] 张会敏. 金银花质量控制关键技术与质量评价体系的研究[D]. 济南:山东中医药大学,2005.
- [118] 胡普辉,杨雪红. 中国金银花发展现状及对策研究[J]. 陕西农业科学,2009,(5):104-106.
- [119] 刘中求. 金银花病虫害发生与防治[J]. 湖南林业科技,2004,31(4):56-57.
- [120] 张永清. 山东金银花生产情况调查[J]. 山东中医杂志,2000,19(10):621-624.
- [121] 张芳,张永清,于晓,等. 蚜虫危害对金银花药材质量的影响[J]. 安徽农业科学,2012,40(9):5306-5307,5636.
- [122] 陈美艳. 吡虫啉对麻黄等三种药材蚜虫防治效果及安全性的初步研究[D]. 北京:中国协和医科大学,2006.
- [123] 孙楠. 金银花生产中农药安全使用标准研究[D]. 北京:中国协和医科大学,2007.
- [124] 刘清浩,刘新涛,倪云霞,等. 吡虫啉在金银花及土壤中的残留动态研究[J]. 植物保护,2011,37(1):90-92.
- [125] 国家质量技术监督局. 农药田间药效试验准则(一)[S]. 北京:中国标准出版社,2000.
- [126] 霍志军,郭才. 田间试验与生物统计[M]. 北京:中国农业大学出版社,2007.
- [127] 张力飞. 田间试验与统计分析[M]. 北京:化学工业出版社,2012.
- [128] 许焯炜,梁爽. 液相色谱法测定人参中噻虫嗪的残留[J]. 中国石油和化工标准与质量,2012,14(11):22.
- [129] 刘银,龚婧如,毛秀红,等. 高效液相色谱-质谱联用法测定白芍药材中23种农药残留[J]. 农药学报,2011,13(5):496-502.
- [130] Singh S B, Kulshrestha G. Residues of thiamethoxam and acetamiprid, two neonicicides, in okra fruits[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2005, 75:945-951.
- [131] 楼正云,汤富彬,陈宗懋,等. 高效液相色谱法检测茶叶中噻虫嗪残留量[J]. 分析实验室,2009,28(S1):76-78.
- [132] 严会会,胡斌,刘惠民,等. 高效液相色谱串联质谱法分析烟草中15种农药残留[J]. 烟草化学,2011,(7):43-47.
- [133] 黄伟,李建中,王会利,等. 噻虫嗪在马铃薯种的残留分析[J]. 环境化学,2010,29(5):970-973.
- [134] 刘琴芳,杨俊柱. 糙米中噻虫嗪的农药残留测定[J]. 农药科学与管理,2013,34(1):25-27.

- [135] 席培宇,李景壮,段亚玲,等. 噻虫嗪在土壤表面及水中的光解特性[J]. 农药,2014,53(10):726-728.
- [136] Schwartz B J, Sparrow F K. Simultaneous derivatization and trapping volatile products from aqueous photolysis of thiamethoxam insecticide [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48:4671-4675.
- [137] GB/T 8321.7-2002. 农药合理使用准则 [S]. 北京:中国标准出版社.
- [138] 陈士林,黄林芳,陈君,等. 无公害中药材生产关键技术研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2011,13(3):436-444.
- [139] 肖小河,陈士林,黄璐琦,等. 中国道地药材研究 20 年概论[J]. 中国中药杂志,2009,34(5):519-523.
- [140] 耿世磊,徐鸿华. 金银花药材规范化种植研究概况[J]. 中草药,2003,34(10):附 14-17.
- [141] 易思荣,申明亮,邓才富,等. 重庆喀斯特地区金银花的生物学特性及规范化种植技术研究[J]. 现代中药研究与实践,2011,25(2):3-5.
- [142] 陈君,程慧珍,陈士林. 中药材生产中的农药安全问题[J]. 食品药品发展与监督,2005,(2):33-34.
- [143] 贺伟. 金银花的化学成分及药理作用研究[J]. 中国医药导报,2007,4(24) : 8-9.
- [144] 何晶. 金银花的化学成分及药理作用[J]. 天津药学,2007,19(5) : 66-68.
- [145] 刘晶,张燕丽,付起凤. 金银花最佳采收期的研究[J]. 中医药信息,2011,28(3):49-50.
- [146] 李建军,贾国伦,李静云,等. 金银花不同花期花蕾质量及指标成分含量比较分析[J]. 河南农业科学,2013,42(10):110-114.
- [147] 辛华,丰杰,程若敏,等. HPLC 测定不同产地金银花中绿原酸和木犀草苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):60-63.
- [148] 闵春艳,游本刚,许琼明,等. 正交试验比较金银花药材中绿原酸与木犀草苷的乙醇提取工艺[J]. 中成药,2011,33(10):1815-1818.
- [149] 刘铁城,刘惠卿,王丽华,等. 西洋参根部腐烂病药剂防治研究[J]. 中药材,1987,(2): 1-4.
- [150] 沈一行,朱玉香,宋洪涛,等. 敌克松对两种曼陀罗生物碱含量的影响[J]. 中药材,1993,16(3): 7-9.
- [151] 马永亮,杨玉武,刘立杰,等. 氧化乐果、吡虫啉和苦参碱对大叶黄杨蜡质层含量的影响[J]. 辽宁林业科技,2006,(1):19.
- [152] 傅晓燕,栾连军,朱炜,等. 双氧水降解残留农药效果及对苦参有效成分的影响[J]. 中国中药杂志,2007,32(20):2098-2102.
- [153] Ford K. A.,Casida J. E.,Chandran D.,et al. Neonicotinoid insecticides induce salicylate-associated plant defense responses[J]. *PNAS*,2010,107(41) :17527-1753.
- [154] 赵国玲,刘佳佳. 金银花化学成分及药理研究进展[J]. 中药材,2002,25(10) :762-763.

作者简介

刘亚南，女，1990年1月生，安徽阜阳人，2008年9月考入安徽师范大学生命科学学院，2012年7月获得安徽师范大学生物科学学士学位；2012年9月考入中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所。攻读硕士期间，独立申报并完成“2013年北京协和医学院研究生暑期社会实践项目”，担任药用植物研究所研究生会副主席、2012级硕士班班长、研究生党支部党委宣传委员等职务。

攻读硕士期间发表论文情况

- 1) 刘亚南，赵东岳，刘敏，胡陈云，李勇，丁万隆^{*}。人参病虫害发生及农药施用现状调查[J]，中国农学通报，2014, 30(10):294-298.
- 2) 刘亚南，董杰，李勇，张金良，王品舒，丁万隆^{*}。25%噻虫嗪水分散粒剂对金银花蚜虫的田间防效评价[J]，世界科学技术—中医药现代化，2015, 17(1): 249-253.
- 3) 刘亚南，李勇，董杰，张金良，王品舒，丁万隆^{*}。金银花规范化种植中农药噻虫嗪安全使用标准的研究[J]，中国中药杂志（已接受）。
- 4) 刘亚南，李勇，董杰，张金良，王品舒，丁万隆^{*}。噻虫嗪对金银花药材指标成分含量影响的初步研究 [J]，中国中药杂志（已投）。
- 5) 赵东岳，李勇，丁万隆^{*}，刘亚南。喷施叶面肥对忍冬生长指标的影响[J]，山东农业科学，2013, 45(12): 66-68.

致谢

药香正浓，却至分离时；前路无垠，且忆今昔情。三年的药植求学路，遇到的是幸福，收获的是成长，留下的是感恩。这是一部成长日记，这是一曲光辉岁月，这是一封感谢有您。恩铭于心，情溢于言。

本论文是在导师丁万隆研究员悉心指导下完成的。衷心感谢导师三年来对我的谆谆教诲和殷切关怀。丁老师严谨的治学态度、求是的敬业精神和乐观的生活态度为我营造了良好的学习和生活氛围。从论文选题到文献查阅、实验方案设计与实施等方面，使我不但学到了知识，提高了科研能力，而且体验到了亲人般的关怀。丁老师为人厚德，处事高远，他的旷达胸襟使我感悟匪浅、受益终身，让我在今后人生路上更加执着、从容和坚定。值此论文完成之际，谨向我的导师丁万隆研究员表示最深切的感谢和最崇高的敬意。

感谢李勇老师三年来的亲切指导。李老师一丝不苟的敬业作风、精益求精的治学态度、钜细靡遗的做事风格，也一直鼓励和鞭策着我，令我敬仰，催我奋进，是我们学习的榜样。

感谢陈君老师、李艾莲老师、李先恩老师、祁建军老师、张丽萍老师、徐长青老师、张琪老师对我实验的指导和生活上的帮助；感谢北京市植物保护站董洁老师、张金良老师、袁老师、王品舒、董二荣、母婷婷在顺义试验基地的帮助。

感谢研究生处彭勇老师、林佳老师、刘俭老师在学习和生活中给予我深切的关怀和莫大的帮助。

感谢我们实验室赵阿娜师姐、朱殿龙师兄、严力群师姐、黄小芳师姐、刘时轮师兄、易茜茜师姐、应益昕师姐、赵东岳师兄、刘敏师姐、胡陈云师姐、师弟龙期良、师妹高原、王梓、邵天蔚等在学习和生活上给予我莫大帮助和关心。衷心感谢你们让我在一个团结奋进、朝气蓬勃而充满欢声笑语的集体中工作和学习，所有的关爱都将化作我永恒的精神财富，会成为激励我在人生路上不断前进的动力。

感谢童燕玲师姐、彭芳师姐、王金芳师姐、晋森师兄、刘赛师兄、刘久石同学、孙同玉同学、郭芝源同学、侯楠同学、张运同学、郜昭慧同学、王增绘同学、师妹王晓玥以及 2012 级硕士班同学给予我实验上和生活中的特殊帮助和鼓励。

特别感谢我的父母、兄嫂、小飞哥和小飞哥的母亲、妹妹，在生活上的关心和精神上的支持，是他们一直用最无私的爱和最宽容的心陪伴我、鼓励我。

感谢所有关心和帮助过我的人。

最后，向所有参加我论文评阅和论文答辩的教授、专家致以最诚挚的谢意！

谢谢你们！

附图



彩图 1 金银花



彩图 2 金银花种苗基地



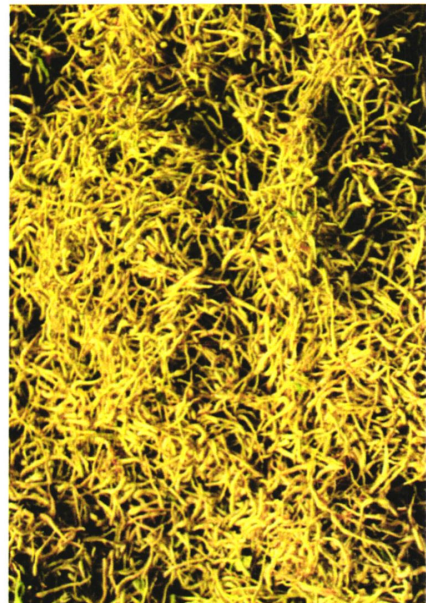
彩图 3 金银花叶背面的蚜虫



彩图 4 金银花叶蜂



彩图 5 金银花蚜虫为害状况



彩图 6 金银花样品