

0.2% 苦皮藤素乳油对非靶标生物的影响^{*}

祁志军¹, 胡兆农¹, 时春喜¹, 吴文君¹, 李恩才²

(1 西北农林科技大学 农药研究所, 陕西 杨凌 712100; 2 宝鸡市植保站, 陕西 宝鸡 721000)

[摘要] 测定了0.2%苦皮藤素乳油对各类非靶标生物的毒性。结果表明, 这种新型植物性杀虫剂对雌雄鹌鹑72 h的LD₅₀分别为2 885.64和2 880.79 mg/kg, 对鱼类和蝌蚪96 h的LC₅₀分别为171.13和68.10 mg/L, 对家蚕24 h的触杀LC₅₀为3 277.33 mg/L, 对蜜蜂24 h的触杀和胃毒LC₅₀分别为9 213.06和1 659.96 mg/L, 对瓢虫24 h的触杀和胃毒LC₅₀分别为1 948.65和1 893.24 mg/L, 对蚯蚓3 d时的LC₅₀为1 680.55 mg/kg土, 对麦田和稻田土壤微生物15 d内的呼吸抑制率分别为7.99%和-3.21%。表明这种新型植物杀虫剂对供试非靶标生物均表现低毒, 属环境友好农药。

[关键词] 苦皮藤素; 植物性杀虫剂; 非靶标生物; 毒性

[中图分类号] S481⁺.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)02-0031-04

在农药的选择与使用方法上, 人们面临的问题是既要有针对性地防治有害生物, 又不伤害不在防治范围内的非靶标生物。农药对非靶标生物的影响主要是对环境有益生物而言的^[1]。0.2%苦皮藤素乳油作为一种新型的植物性杀虫剂, 评价其对环境非靶标生物的毒性与危害性, 是新农药开发中不可缺少的环节^[2], 同时还可以为该药的科学合理使用提供指导。

1 材料与方法

1.1 供试非靶标生物

鹌鹑 美国红唇与朝鲜龙城的F₁代, 30日龄, 由咸阳孵化厂提供。

红鲫鱼 平均体长2.46 cm, 平均体重0.57 g, 由西安市草滩第一渔场提供。

家蚕 陕蚕3号幼虫, 由西北农林科技大学蚕桑研究所提供。

蜜蜂 意大利工蜂(*Apis mellifera* L.), 由杨凌示范区大寨乡养蜂专业户提供。

蝌蚪 孵化10 d左右的泽蛙, 采自渭河。

瓢虫 七星瓢虫、异色瓢虫与龟纹瓢虫二龄若虫, 采自田间。

蚯蚓 赤子爱胜(*Eisenia foelide*), 由西北农林科技大学水土保持研究所蚯蚓生态养殖所提供; 自然土壤(采自西北农林科技大学农学试验站试验田)

与人工配制的标准土壤^[3]。

土壤微生物 试验用土壤为旱地土壤, 采自西北农林科技大学农学试验站试验田; 稻田土壤采自陕西省周至县哑柏镇。将土壤风干, 过2 mm筛, 低温冷藏备用。

1.2 试验方法

1.2.1 对鸟类的毒性测定 急性经口毒性采用灌胃法^[4]。蓄积毒性试验采用剂量定期递增饲料染毒法^[5]。

1.2.2 对鱼类的毒性测定 对鱼类的毒性试验采用半静态法^[6], 每12 h换1次药液, 观察鱼的中毒症状, 记录24, 48, 72, 96 h后的死亡数, 用概率法求出苦皮藤素乳油对鱼的半致死浓度(LC₅₀)及96 h的回归曲线方程^[6, 7]。

1.2.3 对家蚕的毒性测定 以食下叶片法^[7]测定对家蚕的胃毒毒性: 将0.2%苦皮藤素乳油用蒸馏水稀释成系列浓度药液, 把新鲜桑叶用系列浓度药液浸泡20 min, 用药量为0.6 mL/g桑叶, 分别将2, 3, 4, 5龄幼虫接入1 000 mL广口瓶中饲养, 10头/瓶, 重复3次。48 h后观察其中毒死亡情况, 求出LC₅₀值。以体触法^[8, 9]测定对家蚕的触杀毒性: 将直径110 mm的圆形滤纸铺在培养皿中, 用2 mL液浸湿, 接入4龄幼虫, 10头/皿, 重复3次, 任意爬行30 min后喂以新鲜桑叶, 观察24 h内试虫中毒死亡情况, 求出LC₅₀值。产茧量损失评价: 将新鲜桑叶用

^{*} [收稿日期] 2002-12-31

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30130130)

[作者简介] 祁志军(1974-), 男, 陕西宝鸡人, 在读博士, 主要从事农药毒理研究。

1 000 倍(田间推荐用药量)药液浸泡 20 min 后晾干, 饲喂 5 龄幼虫 3 d 后, 换以无毒桑叶饲养, 待其化蛹后, 检查产茧量与茧的质量, 进行产量损失评价^[9]。

1.2.4 对蜜蜂的毒性测定 触杀法^[10, 11]: 制作 10 cm × 8.5 cm × 5.5 cm 的蜂笼, 上下两面为尼龙网, 用镊子小心从蜂脾上夹取蜜蜂, 装入蜂笼。模拟田间环境, 用小型手持喷雾器在距蜂笼 30 cm 处对蜜蜂进行喷雾处理, 每处理 50 只, 喷雾 10 mL, 重复 2 次。观察并记录 24 h 蜜蜂中毒死亡情况。摄入量法^[10, 11]: 用蒸馏水稀释苦皮藤素乳油至 500, 833.3, 1 166.7, 1 500, 1 833.3 倍, 将蜂蜜与药液按体积比 2:1 的比例稀释成 750, 1 250, 1 750, 2 250, 2 750 倍药蜜。用脱脂棉吸药蜜, 置于上层尼龙网上, 饲喂供试蜜蜂, 观察并记录 24 h 内蜜蜂的中毒死亡情况。

1.2.5 对蝌蚪的毒性测定 方法同 1.2.2 鱼类毒性测定方法。

1.2.6 对瓢虫的毒性测定 触杀法^[12]: 将瓢虫接入铺有滤纸的直径 15 cm 的培养皿内, 10 头/皿。用蒸馏水将苦皮藤素乳油稀释至一定浓度, 用小型手持喷雾器在距培养皿 30 cm 处喷雾处理, 2 mL/皿, 重复 4 次。以田间采集的新鲜麦穗蚜饲喂 24 h, 观察并统计其死亡率。胃毒法^[12]: 用蒸馏水将苦皮藤素乳油稀释至一定浓度, 取 250 mL 盛于 500 mL 烧杯中。将正在危害的麦穗蚜连同麦穗浸入药液 5 s 后取出, 用滤纸吸去多余药液放入培养皿中, 接入瓢虫, 10 头/皿, 重复 4 次。24 h 后换以新鲜无毒蚜, 再经 24 h 后检查死亡率。

1.2.7 对蚯蚓的毒性测定 将 0.2% 苦皮藤素乳油用蒸馏水稀释成预定浓度, 与土壤一起拌匀, 使成

0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3 mg/g 的带药土壤。将土壤装入 1 L 敞口玻璃瓶中, 接入蚯蚓, 10 条/瓶, 重复 2 次。用致密的尼龙纱布扎紧瓶口, 置于 (20 ± 2) °C 恒温培养箱内饲养。在处理 1, 3, 7, 14 d 检查蚯蚓死亡率^[3, 13]。

1.2.8 对土壤微生物的毒性测定 土壤微生物毒性试验采用土壤呼吸作用法^[14]。

2 结果与分析

2.1 对鸟类的毒性

急性经口毒性连续观察 1 周, 结果表明, 死亡率与浓度呈正相关, 且自给药后第 4 天起死亡率不再增加。由毒力回归方程求得 72 h 0.2% 苦皮藤素乳油对雌、雄鹌鹑的 LD₅₀ 分别为 2 885.64 和 2 880.79 mg/kg。按禽鸟急性毒性划分标准^[4], 0.2% 苦皮藤素乳油对禽鸟为低毒农药。

经蓄积染毒处理后试鹌无死亡现象, 因此蓄积系数显然大于 5.90, 按照农药蓄积毒性评价标准^[4], 苦皮藤素乳油在鸟类体内轻度蓄积。

2.2 对鱼类的毒性

鱼苗被放入药液约 2 min 后身体开始失去平衡, 侧身游动, 随后变得极为活泼, 急速游动并伴随跳跃。约 10 min 后, 高浓度组的鱼苗翻肚飘浮于水面或侧卧于水底死亡。低浓度组鱼苗趋于平静, 1 h 后逐渐恢复正常。试验结果见表 1。

经统计分析, 0.2% 苦皮藤素乳油对红鲫鱼 96 h 的 LC₅₀ 值为 171.13 mg/L。苦皮藤素乳油田间推荐用药浓度为 1 000 mg/L, 计算投毒系数为 5.84。对照我国农药对鱼类毒性标准^[6], 0.2% 苦皮藤素乳油对鱼类为低毒农药。

表 1 苦皮藤素乳油对鱼的毒性

Table 1 The toxicity of Celangulin LC₅₀ on fish

剂量/(mg · L ⁻¹) Doses	死亡率/% Mortality			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0	0	0	0
160	21.67	23.33	23.33	26.67
170	26.67	28.33	33.33	43.33
180	28.33	40.00	60.00	73.33
190	35.00	46.67	76.67	80.00
200	53.33	73.33	81.67	96.67
210	75.00	85.00	96.67	98.33

2.3 对家蚕的毒性

饲喂试验结果表明, 家蚕幼虫对苦皮藤素乳油表现出强烈的拒食作用, 试蚕对处理桑叶几乎不取食, 因而无法直接测定苦皮藤素乳油对家蚕的胃毒作用。

将 4 龄家蚕经 0.2% 苦皮藤素乳油接触处理

后, 死亡率与浓度呈现良好的线性关系。计算其回归方程为 $Y = 4.91X - 12.25$, 相关系数 0.964 1, 接触致死中浓 LC₅₀ 为 3 277.33 mg/L, 是苦皮藤素乳油的田间推荐用药浓度 1 000 mg/L 的 3 倍以上, 且其对家蚕表现出强拒食作用, 不表现胃毒作用, 因此苦皮藤素乳油对家蚕本身属低毒农药。

用 1 000 倍苦皮藤素乳油稀释液处理后的桑叶饲喂 5 龄幼虫, 试蚕很少取食桑叶。因此, 试蚕实际上等于被饥饿了 3 d。虽然试蚕最后都能结茧, 但结茧盛期推迟了 2 d, 且小茧与薄茧的数量较对照组增加。由表 2 可以看出, 其茧重与丝重也均有明显下降。

表 2 苦皮藤素乳油对家蚕产茧量的影响

Table 2 Effects of 0.2% Celangulin LC₅₀ on the output of cocoon mg

项目 Items	茧重 Weight of cocoon	丝重 Weight of silk
对照 Control	582.95	339.82
处理 Treatment	492.92	275.74
减产率/% Percent of output decreasing	15.56	18.86

2.4 对蜜蜂的毒性

供试蜜蜂经喷雾触杀处理和药蜜饲喂处理后, 蜜蜂死亡率与药剂浓度呈正相关。经统计分析, 求得 0.2% 苦皮藤素乳油对蜜蜂的摄入毒性和触杀毒性 LC₅₀ 值分别为 1 659.96 与 9 213.06 mg/L。0.2% 苦皮藤素乳油的田间推荐用药浓度为 1 000 mg/L。因此, 苦皮藤素乳油对蜜蜂属低毒农药。

2.5 对蝌蚪的毒性

苦皮藤素乳油对蝌蚪的毒性试验结果见表 3。从表 3 可以看出, 0.2% 苦皮藤素乳油对蝌蚪有一定的毒性, 而且随着接触时间的延长, 蝌蚪对苦皮藤素乳油越来越敏感, 24, 48, 72, 96 h 时的 LC₅₀ 值分别为 89.50, 77.33, 72.77, 68.10 mg/L, 参照农药对鱼类的室内毒性评价标准^[6], 苦皮藤素乳油对蝌蚪属低毒农药。

表 3 苦皮藤素乳油对蝌蚪的毒性

Table 3 The toxicity of Celangulin LC₅₀ on tadpole

剂量/(mg·L ⁻¹) Doses	死亡率/% Mortality			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0	0	0	0
60	0	0	0	5
65	0	5	15	25
70	5	10	35	65
75	15	40	55	90
80	20	60	85	100
85	25	85	100	-
90	40	95	-	-
95	60	100	-	-
100	90	-	-	-

2.6 对瓢虫的毒性

由表 4 的试验结果可知, 无论是采用直接喷雾触杀, 还是饲喂浸药蚜虫, 苦皮藤素乳油均对瓢虫表现一定的毒害作用, 其对二龄若虫的 LC₅₀ 分别为 1 948.65 和 1 893.24 mg/L。由于 0.2% 苦皮藤素乳

油的田间推荐用药浓度为 1 000 mg/L, 在此浓度下防治害虫, 对瓢虫仍是比较安全的。

表 4 苦皮藤素乳油对瓢虫的毒性

Table 4 The toxicity of Celangulin LC₅₀ on ladybird

处理浓度/(mg·L ⁻¹) Treat concentrations	死亡率/% Mortality	
	触杀 Contact toxicity	胃毒 In-take toxicity
1 000	-	20.0
1 438.5	-	30.0
2 000	50.0	60.0
2 500	55.0	65.0
3 333.3	70.0	70.0
5 000	80.0	90.0
10 000	90.0	95.0

2.7 对蚯蚓的毒性

试验发现, 在对照和低浓度处理组 (1 000, 1 500 mg/kg) 中, 蚯蚓很快钻入土壤, 较高浓度处理组 (2 000, 2 500 mg/kg) 中, 蚯蚓在土表快速爬行, 并向瓶口移动, 表现出强烈的逃逸趋向; 高浓度处理组 (3 000, 3 500 mg/kg) 中, 蚯蚓翻滚、扭动, 2 h 内全部死于土表, 尸体瘫软, 有粘状分泌物或渗出液, 环节部分明显肿大。

经统计分析, 试验后 1 和 3 d, 0.2% 苦皮藤素乳油对蚯蚓的毒性结果是: 在标准土壤中的 LC₅₀ 值分别为 1 882.37 和 1 680.55 mg/kg, 在自然土壤中的 LC₅₀ 值分别为 2 177.94 与 2 178.78 mg/kg。根据农药对蚯蚓毒性等级划分标准^[13], 0.2% 苦皮藤素乳油对蚯蚓属低毒农药。

2.8 对土壤微生物的影响

试验结果表明, 当土壤中苦皮藤素含量为 1 和 10 mg/L 时, 乳油对土壤微生物呼吸作用影响不大, 处理前期有一定的抑制作用, 但中后期土壤微生物活力开始增强, 并超过对照组; 当土壤中苦皮藤素含量为 50 和 100 mg/L 时, 处理前期麦田和稻田土壤微生物均受到明显抑制, 后期除稻田 100 mg/L 处理组一直处于抑制状态外, 其余 3 个处理组土壤微生物呼吸作用均回升并超过对照组和低浓度处理组。当土壤中苦皮藤素含量为 1 mg/L 时, 其对麦田和稻田土壤微生物呼吸作用抑制率分别为 7.99% 和 -3.21%, 根据农药对土壤微生物的毒性划分等级^[14], 0.2% 苦皮藤素乳油对土壤微生物属低毒农药。

3 结论与讨论

本研究结果表明, 0.2% 苦皮藤素乳油在田间稀释 1 000 倍使用时, 对自然界 8 种主要的非靶标生物——鸟类、鱼类、蜜蜂、蚯蚓、瓢虫、蝌蚪及土壤微

生物均表现安全低毒, 是一种极具开发价值的植物性农药。

关于植物源农药的安全性问题, 许多人都认为植物源农药毒性低, 对环境和人畜以及非靶标生物安全, 属于“绿色农药”。但是并非所有的植物性农药都具有生物合理性, 它很可能对非靶标生物有影响, 甚至对人体健康产生危害。如烟草、狼毒等对高等动

物具有较高的毒性^[15], 其中烟碱对人畜毒性相当高(LD_{50} 为 50~60 mg/kg)^[16]。本研究在国内首次对一种植物源农药进行了系统的安全性评价, 通过评价 0.2% 苦皮藤素乳油对非靶标生物的安全性, 表明其对家蚕具有一定的接触毒性, 且会影响产茧量, 但蚕农在饲喂幼蚕前都对桑叶进行彻底清洗和消毒, 因此其实际毒害作用并不大。

[参考文献]

- [1] 蔡道基. 化学农药对非靶标生物安全评价准则[J]. 农村生态环境, 1987, 3(2): 12-15
- [2] 蔡道基. 化学农药对环境安全性评价[J]. 环境化学, 1991, 10(3): 41-45
- [3] 张壬午, 李治祥, 白清云. 化学农药对生态环境安全性评价 II[J]. 农村生态环境, 1986, 2(2): 14-18
- [4] 杨佩芝, 蒋新明, 蔡道基. 化学农药对禽鸟的毒性与评价[J]. 农村生态环境, 1986, 2(3): 8-11, 37
- [5] 陈锐, 戴珍科, 蔡道基. 农药对禽鸟的毒性与评价[J]. 农村生态环境学报, 1994, 10(4): 78-80
- [6] 蔡道基, 汪竞立, 杨佩芝, 等. 农药对鱼类的毒性与评价的初步研究[J]. 农村生态环境, 1987, 3(2): 7-11
- [7] 朱国念, 陈恺, 刘乾开. 稻瘟灵对鱼类的毒性及环境安全性评价[J]. 环境污染与防治, 1992, 14(2): 2-4
- [8] 陈锐, 张爱云, 蔡道基. 农药对家蚕毒性试验方法[J]. 农村生态环境, 1986, 2(3): 12-15
- [9] 韩农, 陈鹤鑫, 黄欣, 等. 杀菌剂叶青双对家蚕毒性研究[J]. 环境污染与防治, 1995, 17(2): 11-16
- [10] 朱鲁生, 王桂芝, 徐玉新. 甲氰菊酯辛硫磷及其混剂对蜜蜂毒性及影响[J]. 农业环境保护, 1999, 18(4): 165-167
- [11] 倪传华, 刘和香. 五氯酚钠对蜜蜂的毒性测定[J]. 农村生态环境, 1995, 11(2): 62
- [12] 孙瑞红. 灭幼脲三号对金纹细蛾和果园天敌的作用[J]. 昆虫天敌, 1999, 21(1): 1-5
- [13] 张壬午, 李治祥, 白清云, 等. 应用标准方法测定农药对蚯蚓的毒性[J]. 环境科学学报, 1985, 5(3): 327-333
- [14] 朱鲁生, 张玉凤, 樊德方. 辛硫磷甲氰菊酯及其混剂对土壤微生物的影响研究[J]. 农业环境保护, 1999, 18(1): 25-27
- [15] 解庆珂. 植物农药——狼毒[J]. 新疆林业, 1996, (2): 35
- [16] 中华人民共和国农业部农药检定所. 农药登记公告汇编(1999)[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000

Effects of 0.2% celangulins EC on non-target organisms in environment

QI Zhi-jun¹, HU Zhao-nong¹, SHI Chun-xi¹, WU Wen-jun¹, LI En-cai²

(1 Institute of Pesticide Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Station of Plant Protection of Baoji City, Baoji, Shaanxi 721000, China)

Abstract: The toxicities of the novel botanical insecticide, 0.2% Celangulins EC, to non-target organisms were tested. The results showed that the LD_{50} s to female and male quails were 2 885.65 and 2 880.79 mg/kg, the LC_{50} s of 96 h to fish and tadpole were 171.13 and 68.10 mg/L, the LC_{50} to silkworm was 3 277.33 mg/L, the contact and in-take LC_{50} s to bee were 9 213.06 and 1 659.96 mg/L, the contact and in-take LC_{50} s to ladybug were 1 948.65 and 1 893.24 mg/L, the LC_{50} of 3 d to earthworm was 1 680.55 mg/kg soil, the inhabiting ratios to respiration to microorganisms in wheat and paddy soils in 15 d were 7.99% and -3.21%. The results showed that the botanical insecticide had low toxicities to the non-target organisms. 0.2% Celangulins EC belongs to environmental friendly pesticide.

Key words: celangulins; botanical insecticide; non-target organism; toxicity