

# Safety Evaluation of *Bacillus thuringiensis* to Environmental Organisms

Zeqing Wang<sup>1,2</sup>, Fanmin Huang<sup>1,3</sup>, Jianhua Chen<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Guangdong Engineering Research Center of Microbe Pesticides, Yangjiang Guangdong

<sup>2</sup>Guangzhou Harit Bioscience CO. LTD, Guangzhou Guangdong

<sup>3</sup>Guangdong New Scene Biological Engineering CO. Ltd., Yangjiang Guangdong

Email: gold-land@163.com

Received: Jan. 1<sup>st</sup>, 2018; accepted: Jan. 12<sup>th</sup>, 2018; published: Jan. 19<sup>th</sup>, 2018

---

## Abstract

This study evaluates the safety of *Bacillus thuringiensis* GDX026 to environmental organisms based on degrees of toxicity and division standards. The results showed that the toxic degree of *Bacillus thuringiensis* 8000 IU/μL SC to birds, bees, zebrafish, Daphnia, Trichogramma and silkworm was Ib. The toxic degrees of *Bacillus thuringiensis*·Indoxacarb 5% SC to bees, silkworm and Daphnia magna was Ib, to zebrafish and Trichogramma was II and low toxicity to birds. The toxic degrees of Emamectinbenzoate·*Bacillus thuringiensis* 2.4% SC of silkworm and Daphnia magna was Ia, Ib to bees and zebrafish, II to Trichogramma and no risk to birds. Mixture of *Bacillus thuringiensis* GDX026 and chemical pesticides showed higher risk levels to environmental organisms compared with *Bacillus thuringiensis* GDX026.

## Keywords

*Bacillus thuringiensis*, Environmental Organisms, Safety Evaluation

---

# 苏云金杆菌对环境生物的安全性评价

王泽清<sup>1,2</sup>, 黄番敏<sup>1,3</sup>, 陈建华<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>广东省微生物农药工程技术研究中心, 广东 阳江

<sup>2</sup>广州禾立田生物科技有限公司, 广东 广州

<sup>3</sup>广东新景象生物工程有限公司, 广东 阳江

Email: gold-land@163.com

收稿日期: 2018年1月1日; 录用日期: 2018年1月12日; 发布日期: 2018年1月19日

## 摘要

本研究通过室内生物活性测定,评价了苏云金杆菌GDX026制剂对环境生物的安全性。结果表明,8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对鸟、蜜蜂、斑马鱼、大型蚤、赤眼蜂、家蚕低毒;5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对蜜蜂、家蚕、大型蚤、赤眼蜂高毒,对斑马鱼中毒,对鸟低毒;2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对家蚕、大型蚤剧毒,对蜜蜂、斑马鱼高毒,对赤眼蜂中毒,对鸟不存在高风险性。苏云金杆菌GDX026与化学农药复配后,对环境生物的风险性增加。

## 关键词

苏云金杆菌, 环境生物, 安全性评价

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis* (简称 Bt) 是一种重要的病原细菌, 其在发酵过程中可产生具有杀虫活性的毒素蛋白[1], 对双翅目、鳞翅目、鞘翅目、膜翅目、同翅目、直翅目昆虫, 螨类、线虫均显示出杀虫活性[2], 在全球农林病虫害防治中发挥重要作用。由于苏云金杆菌杀虫速度较慢, 杀虫范围比较窄[3][4]。近年来, 国内农药研究者对苏云金杆菌复配作了较多研究, 发现与杀虫剂的合理混用, 不仅能有效地延缓害虫抗药性的发展进程, 同时还能提高药效[5][6], 但对复配药剂对环境生物安全性的关注不多。本研究利用苏云金杆菌 GDX026, 研究其复配制剂对环境生物安全性影响, 引起人们对环境生物的关注, 指导其科学用药。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 试验材料

**供试生物:** 日本鹌鹑(*Coturnix coturnix japonica*), 由佛山市南海区大沥沥丰市场鸡档 10 号提供, 雌雄各半, 在实验室中驯养 7 天。选用 35 d 鸟龄的试验鸟; 试验周期为 7 d; 在温度为 25℃~28℃(>14 d 鸟龄), 相对湿度为 50%~75%, 14 h~16 h 光照的试验条件下进行。

意大利工蜂(*Apis mellifera* L.)由佛山市三水区西南街野山花蜂蜜店提供, 试验前在人工气候室内饲养观察 24 h, 饲养条件为: 温度 25℃ ± 1℃; 相对湿度 60%~70%; 微光。试验时选用大小一致、健康、活泼的工蜂, 试验前饥饿 2 h。

家蚕(*Bombyx mori* L.), 选用品种为 7 湘 × 9 英, 由广东省蚕业技术推广中心提供, 在温度: 25℃ ± 2℃, 湿度: 70%~85% 微光条件下, 选择孵化出的 1 龄蚁蚕开始驯养, 至 2 龄眠起开始试验。

斑马鱼(*Brachydanio rerio*), 由广州杨氏水族馆提供, 体长为 24.30 mm/尾~27.63 mm/尾, 体重为 0.241 g/尾~0.303 g/尾。购回后驯养 7 d, 水温 22℃~23℃; 每天喂食 2 次刚孵化的丰年虫幼体, 试验前 24 h 停止喂食。

赤眼蜂(*Trichogramma ostriniae*), 从衡水田益生防有限责任公司引进蜂种, 待羽化出蜂后以米蛾

(*Corcyra cephalonica*)卵为寄主扩大繁殖。采用继代饲养的新羽化的成虫进行试验。温度  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 70%~80%，光周期 L/D = 14 h/10 h。羽化后 48 h 内的成蜂用于急性毒性试验。

大型溞(*Daphnia magna*)由中国疾病预防控制中心提供，实验室自行保种繁育，每日喂食 1 次绿藻。水温  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ；光照强度 1151-1201lx 溶解氧：7.0~8.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。试验用溞为同一母体孤雌繁殖 3 代以上，出生时间为 6~4 h 健康的幼溞。

**供试药剂：**8000 IU/微升苏云金杆菌(GDX026)悬浮剂(广东省微生物农药工程技术研究中心)，5% 苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂(3% 茚虫威 + 2% 苏云金杆菌 GDX026，广东省微生物农药工程技术研究中心) 2.4% 甲维·苏云金杆菌悬浮剂(2% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 + 0.4% 苏云金杆菌 GDX026，广东省微生物农药工程技术研究中心)。

**仪器：**人工气候室、人工气候箱(PYX-300Q-B)、电子天平(精确至 0.0001 g)、水质参数测定仪(HACH HQ40d)、pH 计(MP511)、试验蜂笼(自制)。

## 2.2. 试验方法

### 2.2.1. 鸟类毒性实验

本次试验选用 35 d 鸟龄的试验鸟；试验周期为 7 d；在温度为  $25^{\circ}\text{C}$ ~ $28^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度为 50%~75%，14 h~16 h 光照的试验条件下进行。试验用鸟以经口灌注法一次性给予供试药液 1 mL/100 g 体重。各处理浓度和空白对照均设立 1 个平行实验，每个平行 10 只试验鸟，雌雄各半。试验期间，于试验开始后每天观察试验鸟的饮食、外观、行为、排泄物以及试验鸟死亡情况等，并及时取出死鸟。

### 2.2.2. 蜜蜂经口毒性试验

试验在人工气候室内进行，温试验温度为  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度为 50%~70%，黑暗。用 50% 的蔗糖水溶解供试药剂，得到系列处理浓度染毒蔗糖水溶液。试验设计 1 个空白对照组和 7 个受试物试验组，每组设置 3 个平行，每个平行 10 只蜜蜂。将蜜蜂麻醉后分装于试验蜂笼中，每笼 10 只蜜蜂。先测定饲喂器重量  $m_0$ ，在饲喂器中加入 100  $\mu\text{L}$  不同浓度受试物试验溶液，测定总重量  $m_1$ ，然后把饲喂器置于蜂笼中。试验进行至 4 h 时受试物试验组受试物试验溶液已完全消耗，取出饲喂器，称量其重量  $m_2$ ，换上不含受试物的蔗糖溶液进行饲喂。计算药液的消耗量  $m_3$  ( $m_3 = m_1 - m_2$ )。空白对照组在饲喂器中加入 100  $\mu\text{L}$  50% 蔗糖溶液进行试验。试验期间，于试验开始后 48 h 观察并记录蜜蜂的异常行为、病理症状和死亡情况。

### 2.2.3. 蜜蜂接触毒性试验

试验在人工气候室内进行，温试验温度为  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度为 50%~70%，黑暗。供试药剂用 2% 吐温溶液溶解，得到系列处理浓度染毒吐温水溶液。试验设计 1 个空白对照组、1 个溶剂对照组和 1 个受试物试验组，每组设置 3 个平行，每个平行 10 只蜜蜂。用氮气把蜜蜂麻醉后，用微量移液器对准蜜蜂中胸背板处，点滴受试物试验溶液 2.0  $\mu\text{L}$ ，待蜂身晾干后转入试验笼中。其中空白对照组不进行点滴，溶剂对照组点滴 2.0  $\mu\text{L}$  2% 吐温溶液。试验周期 48 h，于试验开始后 48 h 观察并记录蜜蜂的异常行为、病理症状和死亡情况。

### 2.2.4. 斑马鱼毒性试验

试验用水为过滤曝气的自来水，总硬度为 118.40  $\text{mg/L}$ (以  $\text{CaCO}_3$  计)，pH 变化范围为 7.70~7.95；温度变化范围为  $22.0^{\circ}\text{C}$ ~ $23.3^{\circ}\text{C}$ ；溶解氧含量的变化范围为 64%~83%。用试验用水溶解供试药剂，得到系列处理浓度染毒溶液。试验设计 1 个空白对照组和 1 个受试物试验组，每组设置 3 个平行，每个平行 10 尾试验鱼；以半静态方式(分别在试验 24 h、48 h 和 72 h 更换一次试验溶液)进行试验。试验周期 96 h，

于试验开始后 24 h、48 h、72 h 和 96 h 观察记录各容器内的鱼的活动状态和死鱼数，并及时取出死亡鱼。试验期间禁食。

### 2.2.5. 家蚕毒性试验

试验在温度范围为 24.6℃~25.7℃，湿度范围为 74.7%~76.9%，微弱光照，16 h 光照/8 h 黑暗的环境下进行。供试药剂用去离子水溶解，得到系列处理浓度的供试溶液。试验设计 1 个空白对照组和 7 个受试物试验组，每组设置 3 个平行，每个平行 20 头家蚕。受试物试验组：用 8 mL 不同浓度的受试物溶液浸渍 5 g 桑叶约 10 s，放置在通风处，于塑料纱网上晾干。取约 1/4 晾干的桑叶饲喂培养皿中的试验家蚕，其余置于 4℃ 环境中保存，并于试验开始后 24 h、48 h 和 72 h 进行饲喂。空白对照组：用 8 mL 去离子水浸渍 5 g 桑叶约 10 s，放置在通风处，于塑料纱网上晾干。取约 1/4 晾干的桑叶饲喂培养皿中的试验家蚕，其余置于 4℃ 环境中保存，并于试验开始后 24 h、48 h 和 72 h 进行饲喂。试验周期 96 h，每隔 24 h 观察并记录家蚕的异常行为、病理症状和死亡情况。

### 2.2.6. 大型蚤毒性试验

试验用水为过滤曝气的自来水，总硬度为 105.37 mg/L(以 CaCO<sub>3</sub> 计)，pH 变化范围为 7.89~8.21；温度变化范围为 20.7℃~21.3℃；溶解氧含量的变化范围为 7.0 mg/L~7.9 mg/L。光照强度 1151-1201lx。用试验用水溶解供试药剂，得到系列处理浓度染毒溶液。试验设计 1 个空白对照组和 1 个受试物试验组，每组设置 4 个平行，每个平行 5 只试验蚤；将试验用蚤转移至试验溶液中，以静态方式进行试验。试验周期 48 h，试验开始后 24 h、48 h 观察记录各容器内的蚤的活动状态和死蚤数，并及时取出死亡蚤。试验期间禁食。

### 2.2.7. 赤眼蜂接触毒性试验

试验在环境温度范围为 24.00℃~24.5℃，相对湿度范围为 72.8%~76.3%，避光的条件下进行。供试药剂用甲醇溶解，得到系列处理浓度的供试溶液。试验设计 1 个空白对照组、1 个溶剂对照组、1 个受试物试验组，每组设置 3 个平行，每个平行 100 ± 10 只赤眼蜂成蜂。溶剂对照组：在内表面积为 31.39 cm<sup>2</sup> (内口径为 1.38 cm，内高为 6.90 cm) 的平底指形管中加入 0.200 ml 甲醇，将甲醇在平底指形管中充分滚吸，使甲醇均匀地涂于平底指形管内壁，待甲醇完全挥发后即成溶剂对照组药膜管。然后转入赤眼蜂自由爬行 1 h 后转入未经任何处理的平底指形管中，放入浸有 20% 蜜蜂水的滤纸条，封紧管口，开始试验。受试物实验组：在内表面积为 31.39 cm<sup>2</sup> (内口径为 1.38 cm，内高为 6.90 cm) 的平底指形管中加入 0.200 ml 受试物试验溶液，将受试物试验溶液在平底指形管中充分滚吸，使受试物试验溶液均匀地涂于平底指形管内壁，待受试物试验溶液完全挥发后即受试物试验组药膜管。然后转入赤眼蜂自由爬行 1 h 后转入未经任何处理的平底指形管中，放入浸有 20% 蜜蜂水的滤纸条，封紧管口，开始试验。空白对照组：将赤眼蜂成蜂转入未经任何处理的平底指形管中爬行 1 h 后转入另一只未经任何处理的平底指形管，放入浸有 20% 蜜蜂水的滤纸条，封紧管口，开始试验。试验周期 24 h，药后 24 h 内观察受试赤眼蜂生长和中毒状况，统计死亡数和死亡率。

## 2.3. 数据处理

采用 SPSS 数据处理软件中的概率单位回归模块(Regression-probit)处理数据，计算半数效应浓度(LC<sub>50</sub>、LR<sub>50</sub>、EC<sub>50</sub>、LD<sub>50</sub>)及其 95% 置信限。

$$\text{安全系} = \frac{\text{LR}_{50}}{\text{推荐使用浓度}} \quad [7]$$

### 3. 结果与分析

#### 3.1. 农药对鸟类的毒性及安全性评价

3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对鸟类的毒性试验结果如表1所示。8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对日本鹌鹑的7d-LD<sub>50</sub> > 1.00 × 10<sup>3</sup> a.i.mg/kg.bw, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂的7d-LD<sub>50</sub> > 500 a.i.mg/kg.bw, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂的7d-LD<sub>50</sub> > 174 a.i.mg/kg.bw, 根据“GB/T31270.9-2014 化学农药环境安全评价试验准则第9部分: 鸟类急性毒性试验”的毒性评价标准: 7d-LD<sub>50</sub> ≤ 10 mg/kg.bw 为剧毒; 10 mg/Kg. bw < 7d-LD<sub>50</sub> ≤ 50 mg/kg.bw 为高毒; 50 mg/kg.bw < 7d-LD<sub>50</sub> ≤ 500 mg/kg.bw 为中毒, 7d-LD<sub>50</sub> > 500 mg/kg.bw 为低毒, 对3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对鸟类的安全性评价为8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对鸟类低毒, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对鸟类低毒, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对鸟类中低毒, 在本试验条件下不易定级。

**Table 1.** Toxicity of *Bacillus thuringiensis* GDX026 to environmental organisms

**表 1.** 苏云金杆菌(GDX026)制剂对环境生物的毒性结果

试验项目	试验药剂	评价指标	毒力值	95%置信区间
鸟类毒性实验	8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂	7 d LD <sub>50</sub>	>1.00 × 10 <sup>3</sup> a.i.mg/kg.bw	-
	5% 苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂	7 d LD <sub>50</sub>	>500 a.i.mg/kg.bw	-
	2.4% 甲维·苏云金杆菌悬浮剂	7 d LD <sub>50</sub>	>174 a.i.mg/kg.bw	-
蜜蜂经口毒性试验	8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂	48 h LC <sub>50</sub>	305 μg/蜂	184~1.14 × 10 <sup>3</sup> μg/蜂
	5% 苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂	48 h LC <sub>50</sub>	0.0227 μg/蜂	0.0109~0.0341 μg/蜂
	2.4% 甲维·苏云金杆菌悬浮剂	48 h LC <sub>50</sub>	0.0294 μg/蜂	0.0138~0.404 μg/蜂
蜜蜂接触毒性试验	8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂	48 h LD <sub>50</sub>	>100 μg/蜂	-
	5% 苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂	48 h LD <sub>50</sub>	0.0516 μg/蜂	0.0306~0.0728 μg/蜂
	2.4% 甲维·苏云金杆菌悬浮剂	48 h LD <sub>50</sub>	6.26 × 10 <sup>-3</sup> μg/蜂	4.56 × 10 <sup>-3</sup> ~8.36 × 10 <sup>-3</sup> μg/蜂
斑马鱼毒性试验	8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂	96 h LC <sub>50</sub>	>132 mg/L	-
	5% 苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂	96 h LC <sub>50</sub>	3.66a.i. mg/L	1.82~5.36 a.i. mg/L
	2.4% 甲维·苏云金杆菌悬浮剂	96 h LC <sub>50</sub>	0.327a.i. mg/L	0.281~0.517a.i. mg/L
家蚕毒性试验	8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂	96 h LC <sub>50</sub>	132 mg/L	120~151 a.i. mg/L
	5% 苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂	96 h LC <sub>50</sub>	2.33a.i. mg/L	1.95~2.81 mg/L
	2.4% 甲维·苏云金杆菌悬浮剂	96 h LC <sub>50</sub>	5.62 × 10 <sup>-3</sup> a.i. mg/L	5.22 × 10 <sup>-3</sup> ~5.96 × 10 <sup>-3</sup> a.i.mg/L
大型蚤毒性试验	8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂	48 h-EC <sub>50</sub>	>100 mg/L	-
	5% 苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂	48 h-EC <sub>50</sub>	0.449 a.i. mg/L	0.301~0.533 a.i. mg/L
	2.4% 甲维·苏云金杆菌悬浮剂	48 h-EC <sub>50</sub>	0.0247 a.i. mg/L	0.185~0.0393 a.i. mg/L
赤眼蜂接触毒性试验	8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂	SF	>10	-
	5% 苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂	SF	0.221	-
	2.4% 甲维·苏云金杆菌悬浮剂	SF	0.801	-

### 3.2. 农药对蜜蜂经口毒性及安全性评价

3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对蜜蜂的经口毒性试验结果如表1所示。8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对意大利蜜蜂的48 h-LD<sub>50</sub>:305 μg/蜂, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂的48 h-LD<sub>50</sub>:0.0227 μg/蜂, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂的48 h-LD<sub>50</sub>:0.0294 μg/蜂。根据“GB/T31270.10-2014 化学农药环境安全评价试验准则第10部分: 蜜蜂急性毒性试验”规定的化学农药对蜜蜂急性经口毒性的评价标准: 48 h-LD<sub>50</sub> ≤ 1.0 × 10<sup>-3</sup> a.i. μg/蜂为剧毒; 1.0 × 10<sup>-3</sup> a.i. μg/蜂 < 48 h-LD<sub>50</sub> ≤ 2.0 a.i. μg/蜂为高毒; 2.0 a.i. μg/蜂 < 48 h-LD<sub>50</sub> ≤ 11.0 a.i. μg/蜂为中毒, 48 h-LD<sub>50</sub> > 11.0 a.i. μg/蜂为低毒, 3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对蜜蜂摄入的安全性评价为8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对蜜蜂低毒, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对蜜蜂高毒, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对蜜蜂高毒。

### 3.3. 农药对蜜蜂接触毒性及安全性评价

3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对蜜蜂的经口毒性试验结果如表1所示。8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对意大利蜜蜂的48 h-LD<sub>50</sub>:>100 μg/蜂, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂的48 h-LD<sub>50</sub>:0.0516 μg/蜂, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂的48h-LD<sub>50</sub>:6.26 × 10<sup>-3</sup> μg/蜂。根据“GB/T 31270.10-2014 化学农药环境安全评价试验准则第10部分: 蜜蜂急性毒性试验”规定的化学农药对蜜蜂急性接触毒性的评价标准: 48h-LD<sub>50</sub> ≤ 1.0 × 10 a.i. μg/蜂为剧毒; 1.0 × 10<sup>-3</sup> a.i. μg/蜂 < 48h-LD<sub>50</sub> ≤ 2.0 a.i. μg/蜂 为高毒; 2.0 a.i. μg/蜂 < 48h-LD<sub>50</sub> ≤ 11.0 a.i. μg/蜂为中毒, 48h-LD<sub>50</sub> > 11.0 a.i. μg/蜂为低毒, 3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对蜜蜂摄入的安全性评价为8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对蜜蜂低毒, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对蜜蜂高毒, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对蜜蜂高毒。

### 3.4. 农药对斑马鱼毒性及安全性评价

3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对斑马鱼毒性试验结果如表1所示。8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对斑马鱼的96h-LC<sub>50</sub> > 132 mg/L, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂的96h-LC<sub>50</sub>:3.66a.i. mg/L, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂的96h-LC<sub>50</sub>:0.327 a.i. mg/L。根据“GB/T 31270.12-2014 化学农药环境安全评价试验准则第12部分: 鱼类急性毒性试验”规定的化学农药对鱼类急性毒性的评价标准: 96h-LC<sub>50</sub> ≤ 1 ≤ 0.1 mg a.i./L 为剧毒; 0.1 mg a.i./L < 96h-LC<sub>50</sub> ≤ 1.0 mg a.i./L 为高毒; 1.0 mg a.i./L < 96h-LC<sub>50</sub> ≤ 10 mg a.i./L 为中毒, 96h-LC<sub>50</sub> > 10 mg a.i./L 为低毒, 3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对斑马鱼的安全性评价为8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对斑马鱼低毒, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对斑马鱼中毒, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对斑马鱼高毒。

### 3.5. 农药对家蚕毒性及安全性评价

3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对家蚕毒性试验结果如表1所示。8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对家蚕的96h-LC<sub>50</sub>:132 mg/L, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂的96h-LC<sub>50</sub>:2.33 a.i. mg/L, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂的96h-LC<sub>50</sub>:5.62 × 10<sup>-3</sup> a.i. mg/L, 根据“GB/T 31270.11-2014 化学农药环境安全评价试验准则第11部分: 家蚕急性毒性试验”规定的化学农药对家蚕急性毒性的评价标准: 96h-LC<sub>50</sub> ≤ 0.5 a.i. mg/L 为剧毒; 0.5 a.i. mg/L < 96h-LC<sub>50</sub> ≤ 20 a.i. mg/L 为高毒; 20 a.i. mg/L < 96h-LC<sub>50</sub> ≤ 200 a.i. mg/L 为中毒, 96h-LC<sub>50</sub> > 200 a.i. mg/L 为低毒, 3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对家蚕的安全性评价为8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对家蚕中毒, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对家蚕高毒, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对家蚕剧毒。

### 3.6. 农药对大型溞毒性及安全性评价

3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对大型溞毒性试验结果如表1所示。8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对大型溞的48h-EC<sub>50</sub>>100 mg/L, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂的48h-EC<sub>50</sub>:0.449 a.i. mg/L, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂的48h-EC<sub>50</sub>:0.0247 a.i. mg/L, 根据“GB/T 31270.12-2014 化学农药环境安全评价试验准则第13部分: 溞类急性活动抑制试验”规定的化学农药对溞类急性毒性的评价标准: 48h-EC<sub>50</sub>≤0.1 a.i. mg/L为剧毒; 0.1 a.i. mg/L < 48h-EC<sub>50</sub>≤1.0 a.i. mg/L为高毒; 1.0 a.i. mg/L < 48h-EC<sub>50</sub>≤10 a.i. mg/L为中毒, 48h-EC<sub>50</sub>>10 a.i. mg/L为低毒, 3种含苏云金杆菌(GDX026)农药制剂对大型溞的安全性评价为8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对大型溞低毒, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对大型溞高毒, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对大型溞剧毒。

### 3.7. 农药对赤眼蜂毒性及安全性评价

根据“GB/T31270.17-2014 化学农药环境安全评价试验准则第17部分: 赤眼蜂急性毒性试验”规定的化学农药对赤眼蜂急性接触毒性的评价标准: 安全系数≤0.05为极高风险性, 0.05 < 安全系数≤0.5为高风险性, 0.5 < 安全系数≤5为中等风险性, 安全系数>5为低风险性。8000IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对赤眼蜂的安全系数>10, 属低风险性, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对赤眼蜂的安全系数为0.221, 属高风险性, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对赤眼蜂的安全系数为0.801, 属中等风险性。

## 4. 结论与讨论

结果表明, 8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂是一种安全性生物农药, 在本实验条件下, 对鸟类、鱼类、蜜蜂、家蚕、天敌生物赤眼蜂、大型溞低毒性。与化学农药复配后的苏云金杆菌制剂, 对环境生物具备一定的风险性, 除对鸟类低度外, 对家蚕、蜜蜂、水生生物、天敌生物的风险性均增加。苏云金杆菌复配制剂对蜜蜂高毒, 在田间施用, 应该注意采取防护措施, 避免花期使用。复配后的两种制剂对家蚕高毒, 甚至剧毒, 应避免在桑园附近使用, 在附近农田使用时注意风向, 避免飘移至桑叶上。在水生生物方面, 2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对鱼类、大型溞分别高毒和剧毒, 5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂对水生物的毒性也表现为中高毒, 施用时应远离水产养殖区、河塘等水域施药, 涂后的废水不应污染河流等水源, 未用完的药液应密封后妥善放置。在天敌生物方面, 与化学农药复配后的苏云金杆菌制剂对靶标昆虫及有益昆虫的选择灭杀性并不明显, 对赤眼蜂均表现出中高风险性。5%苏云金杆菌·茚虫威悬浮剂、2.4%甲维·苏云金杆菌悬浮剂对陆生有益昆虫危害较大, 使用时应根据施药环境对有益昆虫进行适当的保护。

在本实验中, 选用赤眼蜂成蜂作为毒力测定的生物材料, 其试验结果说明8000 IU/微升苏云金杆菌悬浮剂对赤眼蜂成蜂的风险性较低, 但是杀虫剂一方面是通过直接杀伤力影响天敌生物的种群密度, 另一方面可以通过食物链毒性(即次级中毒)和亚致死效应来影响天敌。吡蚜酮、抗蚜威和吡虫啉对狭臂瓢虫 *Coccinella transversalis* Fabricius、狭臂瓢虫 *Coccinella transversalis* Fabricius 天敌昆虫的直接毒力都很低但会影响其发育能力和生殖能力[8]。阿维菌素、多杀菌素和甲氧虫酰肼影响捕食性盲蝽产卵量和发育历期[9]。植物生长调节剂亚致死剂量、虫生真菌也分别对二星瓢虫、小黑瓢虫和七星瓢虫的生物学和生态学特性产生影响[10] [11] [12] [13] [14]。Bt 转基因棉田蚜虫喂饲的龟纹瓢虫的存活率、成蛹率显著低于以非转基因棉田蚜虫喂饲的龟纹瓢虫, 也可能与毒素蛋白在龟纹瓢虫体内富集有关[15]。因此, 即使是施用微生物农药, 虽然对天敌生物不产生直接杀伤力, 但是亚致死性风险很大, 这种影响带来的食物链和物种多样化失衡程度应引起科学工作者的重视, 这也是所有农药都要面临的问题。

苏云金杆菌是一种生物农药, 环境安全性是其优势之一。将微生物与化学农药混配固然能够增加对

靶标生物的毒性，但结合本试验可以看出化学农药与生物农药混配极大可能会增加环境风险性。因此，慎重复配和科学指导用药是农药生产者的责任。

## 基金项目

阳江市科技中小企业技术创新专项资金(2015002)，广东省省级科技计划项目(2015B090903042)，国家级星火计划项目(2015GA780011)，广东省农业与农村工作专项资金(粤财农【2017】104号)。

## 参考文献 (References)

- [1] Tabashnik, B.E. (1994) Evolution of Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, **39**, 47-79. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.39.010194.000403>
- [2] 谭声江, 陈晓峰, 李典谟. 昆虫对 Bt 毒素的抗性机理研究进展[J]. 昆虫知识, 2001, 38(1): 12-17.
- [3] 申继忠, 钱传范. 苏云金杆菌杀虫增效途径研究进展[J]. 中国生物防治, 1994, 10(3): 135-140.
- [4] 张宗炳, 曹骥. 害虫防治策略与方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1990.
- [5] 徐健, 蔡杨生, 朱锦磊, 等. 苏云金杆菌与化学杀虫剂的联合作用测定[J]. 江苏农业科学, 2001(2): 45-46.
- [6] 王碧琴, 闵炜, 肖忆良, 等. 苏云金杆菌菌液与化学农药混用毒杀菜青虫的增效作用[J]. 江西农业大学学报, 1997, 19(3): 116-120.
- [7] 农业部农药检定所, 环保部南京环境科学研究所. GB/T 31270.17-2014 化学农药环境安全评价试验准则第 17 部分: 赤眼蜂急性毒性试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [8] Cole, P.G., Cutler, A.R., Kobelt, A.J., et al. (2010) Acute and Long-Term Effects of Selective Insecticides on *Microgaster tasmaniae* Walker (Neuroptera: Hemerobiidae), *Coccinella transversalis* F. (Coleoptera: Coccinellidae) and *Nabis kinbergii* Reuter (Hemiptera: Miridae). *Australian Journal of Entomology*, **49**, 160-165. <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.2009.00743.x>
- [9] Kim DS, Brooks DJ, Riedl H. (2006) Lethal and Sublethal Effects of Abamectin, Spinosad, Methoxyphenozide and Acetamiprid on the Predaceous Plant Bug *Deraeocoris brevis* in the Laboratory. *BioControl*, **51**, 465-484. <https://doi.org/10.1007/s10526-005-1028-0>
- [10] Olszak, R.W. (1999) Influences of Some Pesticides on Mortality and Fecundity of the Aphidophagous Coccinellid *Adalia bipunctata* L. (Col., Coccinellidae). *Journal of Applied Entomology*, **123**, 41-45. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.1999.00314.x>
- [11] Olszak, R.W., Pawlik, B. and Zajac, R.Z. (1994) The Influence of Some Insect Growth Regulators on Mortality and Fecundity of the Aphidophagous Coccinellids *Adalia bipunctata* L. and *Coccinella septempunctata* L. (Col., Coccinellidae). *Journal of Applied Entomology*, **117**, 58-63. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1994.tb00707.x>
- [12] Liu, T.X. and Stansly, P.A. (2004) Lethal and Sublethal Effects of Two Insect Growth Regulators on Adult *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae), A predator of Whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Biological Control*, **30**, 298-305. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.01.007>
- [13] Wang, L., Huang, J., You, M., et al. (2005) Effects of Toxins from Two Strains of *Verticillium lecanii* (Hyphomycetes) on Bioattributes of a Predatory Ladybeetle *Delphastus catalinae* (Col., Coccinellidae). *Journal Applied Entomology*, **129**, 32-38. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2005.00929.x>
- [14] Simelane, D.O., Steinkraus, D.C. and Kring, T.J. (2008) Predation Rate and Development of *Coccinella septempunctata* L. Influenced by *Neozygites fresenii*-Infected Cotton Aphid Prey. *Biological Control*, **44**, 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.10.004>
- [15] Zhang, S.Y., Li, D.M., Cui, J., et al. (2006) Effects of Bt-Toxin Cry1Ac on *Propylaea japonica* Thunberg (Col., Coccinellidae) by Feeding on Bt-Treated Bt-Resistant *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lep., Noctuidae) Larvae. *Journal Applied Entomology*, **130**, 206-212. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2006.01049.x>



**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2330-1724，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[ojs@hanspub.org](mailto:ojs@hanspub.org)