

NY

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx—2015

## 化学农药 天敌昆虫（瓢虫）急性 接触毒性试验准则

Chemical pesticide—Guideline for Ladybird beetle acute contact toxicity  
test

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2015-XX-XX发布

2015-XX-XX实施

中华人民共和国农业部发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出并归口。

本标准负责起草单位：农业部农药检定所、中国矿业大学(北京)

本标准主要起草人：

# 化学农药 天敌昆虫（瓢虫）急性接触毒性试验准则

## 1 范围

本标准规定了天敌瓢虫急性接触毒性试验的材料、条件、操作、质量控制、数据处理、试验报告等的基本要求。

本标准适用于为化学农药登记而进行的天敌瓢虫急性接触毒性试验，其他类型农药可参照使用。

本标准不适用于易挥发和难溶解的化学农药。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

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

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**半致死用量** median lethal rate

在急性毒性试验中，引起 50% 供试生物死亡时单位面积的供试物使用量，用  $LR_{50}$  表示。

注：单位为  $g\ a.i./cm^2$ ，即单位面积上所附着的供试物有效成分的量

### 3.2

**供试物** test substance

试验中需要测试的物质。

### 3.3

**限量试验** Limit test

如果供试物在农田内推荐最大使用剂量下对瓢虫的毒性非常低，或者无法获得一个可靠的  $LR_{50}$  值，此时需要在供试物最大田间推荐使用剂量乘以多次施药因子条件下，测试供试物对瓢虫的毒性效应。

### 3.4

**多次施药因子** Multiple Application Factor, MAF

为供试物多次施用后，最后一次施用的初始浓度与单次施用后供试物初始浓度的比值。其主要取决于供试物的半衰期、施药的间隔以及施用的次数，本标准默认 MAF 值为 3。

## 4 试验概述

采用药膜法处理瓢虫幼虫。将供试物用水或其他有机溶剂配制成一系列不同浓度的稀释液，定量均匀施于入一定面积的玻璃容器中或玻璃板(盘)表面，然后将试验用瓢虫幼虫放入其中(上)胁迫暴露，每天观察和记录容器中(上)瓢虫的中毒症状和死亡数，直至各浓度处理组死亡率稳定或至成虫羽化。计算出  $LR_{50}$  值及其 95% 置信限。本标准药膜染毒可使用指形管或玻璃板(盘)2 种器具。

## 5 试验方法

### 5.1 材料和条件

#### 5.1.1 供试生物

选择七星瓢虫(*Coccinella septempunctata*)、异色瓢虫(*Harmonia axyridis*)、龟纹瓢虫(*Propylea japonica*) 其中一种。试验幼虫采用孵化出来 4-5 天的二龄幼虫，本标准推荐采用七星瓢虫。

#### 5.1.2 供试物

农药原药或制剂。难溶于水的可用少量对瓢虫毒性小的有机溶剂、乳化剂或分散剂等助溶，助溶剂用量不应超过 0.1 mL (g) /L。

#### 5.1.3 主要仪器设备

智能人工气候箱；

电子天平；

移液器；

容量瓶；

指形管；

喷雾器（适用玻璃板药膜法）；

玻璃板（盘）试验装置（适用玻璃板药膜法）；

环行防护罩（适用玻璃板药膜法）；

瓢虫饲养装置等。

#### 5.1.4 试验条件

试验应在温度 20℃~25℃，相对湿度 50%~70%，光照周期 16 h:8 h(光照：黑暗)条件下进行。

### 5.2 试验操作

#### 5.2.1 预试验

将供试物用蒸馏水或有机溶剂配制成 4 个~5 个较大间距不同浓度的稀释液，采用与正式试验一致方法，定量均匀涂布制作各浓度玻璃药膜板(盘/管)，然后将试验用瓢虫幼虫接入，并以棉塞、纱布等盖封，保持封口透气性并防止试虫逃逸。每天饲喂足量活的蚜虫。每天观察记录管中瓢虫幼虫的中毒

症状和死亡数。求出供试物对试验用瓢虫幼虫的最低全致死浓度和最高全存活浓度。

## 5.2.2 正式试验

### 5.2.2.1 浓度组设置

根据预试验结果，正式试验按等比设置至少5个梯度浓度（级差应控制在2.2倍以内），并设空白对照组，供试物用有机溶剂溶解时，还需设溶剂对照组，对照组和每浓度处理组均设3个重复，每重复10头瓢虫幼虫

### 5.2.2.2 染毒

**方法1：**在玻璃指形管中定量加入配置好的各浓度供试药液，将药液在指形管中充分滚动，直至晾干制成均匀药膜管，然后将供试瓢虫幼虫单头接入药膜管中，饲喂足量的活蚜虫，并以棉塞封紧管口，以后每天保证充足的活蚜虫作为食物。对照组的瓢虫数量与处理组相同，对照组与处理组应同时进行。

**方法 2：**在一定尺寸（如长×宽=40cm×18cm）的玻璃板（盘）上均匀涂布或喷洒配置好的各浓度供试药液，并立即精确计算玻璃板（盘）上的着药量，然后自然晾干或冷风吹干待用。取预先制备好的圆柱形玻璃环（ $\phi 5\text{cm}$ ，h4cm），将距底部 3mm 之上的玻璃环内部均匀环形涂布凡士林（防止试虫沿着玻璃环内壁上爬，且避免对试虫生长造成不利影响），置于晾干的玻璃药膜板（盘）上，保持玻璃环与板（盘）面尽量无缝隙并作适当固定，每环单头接入试验瓢虫幼虫并盖封，按方法 1 进行喂食。试验装置示意图 1。

玻璃药膜板（盘）需清洁干净，制备需使用适宜的涂布或喷洒装置，装置应能使供试物药液均匀的涂布在玻璃板（盘）上。涂布或喷洒使用药液量一般不超过 200L/ha，以免溢流造成着药量不准。涂布或喷洒前需检查药液沉降的均匀性，以满足在玻璃板(盘)上药液喷洒量为  $2 \pm 0.2 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ 。可使用清水重复检查至少三次，每次的涂布或喷洒前后都应迅速对玻璃板（盘）称重，计算预计的着药量（重复间的平均误差应控制在预计着药量的 10% 以下）。同时记录涂布或喷洒装置的各种信息（如型号、喷嘴类型及孔径、喷洒压力等）。重复施药前，涂布或喷洒装置应用清水清洗、校准。

也可使用其它适宜的方法制备药膜板，但应给出详细的描述制备方法。

### 5.2.2.3 观察与记录

每天观察并记录玻璃管（环）中瓢虫的中毒症状和死亡数，直至出现稳定死亡率或化蛹。化蛹后，蛹继续保持在药膜管内观察至成虫羽化（通常化蛹后大约10-15天），计算成虫羽化率，未羽化成虫均计入死亡虫数。

## 5.3 限量试验

限量试验的上限剂量设置为供试物田间最大推荐有效剂量乘以多次施药因子。若试验用瓢虫在供试物达到上限剂量时未出现死亡，则无需继续试验；若供试物在水或其它有机溶剂的溶解度小于田间最大推荐有效剂量乘以多次因子时，则采用其最大溶解度作为上限剂量。

6 数据处理

LR<sub>50</sub>的计算可采用机率值法估算，也可应用有关毒性数据计算软件进行分析和计算。如寇氏法可用于计算瓢虫在 24h、48h 等不同观察周期的 LR<sub>50</sub> 值及 95% 置信限。

LR<sub>50</sub>的计算见式（1）：

$$\log LR_{50} = X_m - i(\sum P - 0.5) \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X<sub>m</sub>—最高浓度的对数；

i—相邻浓度比值的对数；

∑P—各组死亡率的总和（以小数表示）。

95% 置信限的计算见式（2）：

$$95\% \text{ 置信限} = \log LR_{50} \pm 1.96S \log LR_{50} \dots\dots\dots (2)$$

标准误的计算见式（3）：

$$S \log LR_{50} = i \sqrt{\sum \frac{pq}{n}} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

p—1 个组的死亡率；

q—1-p；

n—各浓度组瓢虫的数量。

7 质量控制

质量控制条件包括：

——对照组死亡率不超过 10%。

8 试验报告

试验报告应包括下列内容：

——供试物的信息，包括供试农药的通用名、化学名称、结构式、CAS 号、纯度、基本理化性质、来源等。

——供试生物名称、来源、培养方法；

——试验条件，包括：试验温湿度、光照条件等；

——试验方法，包括：浓度设置、药膜制备、所用装置等；

——试验用药液量，24 h、48 h 或一定周期的  $LR_{50}$  值和 95% 置信限，并给出所采用的计算方法；

——对照组及处理组是否出现死亡及异常反应；

——试验质量控制条件描述；

——试验结果及毒性评价

附录 A  
(资料性附录)

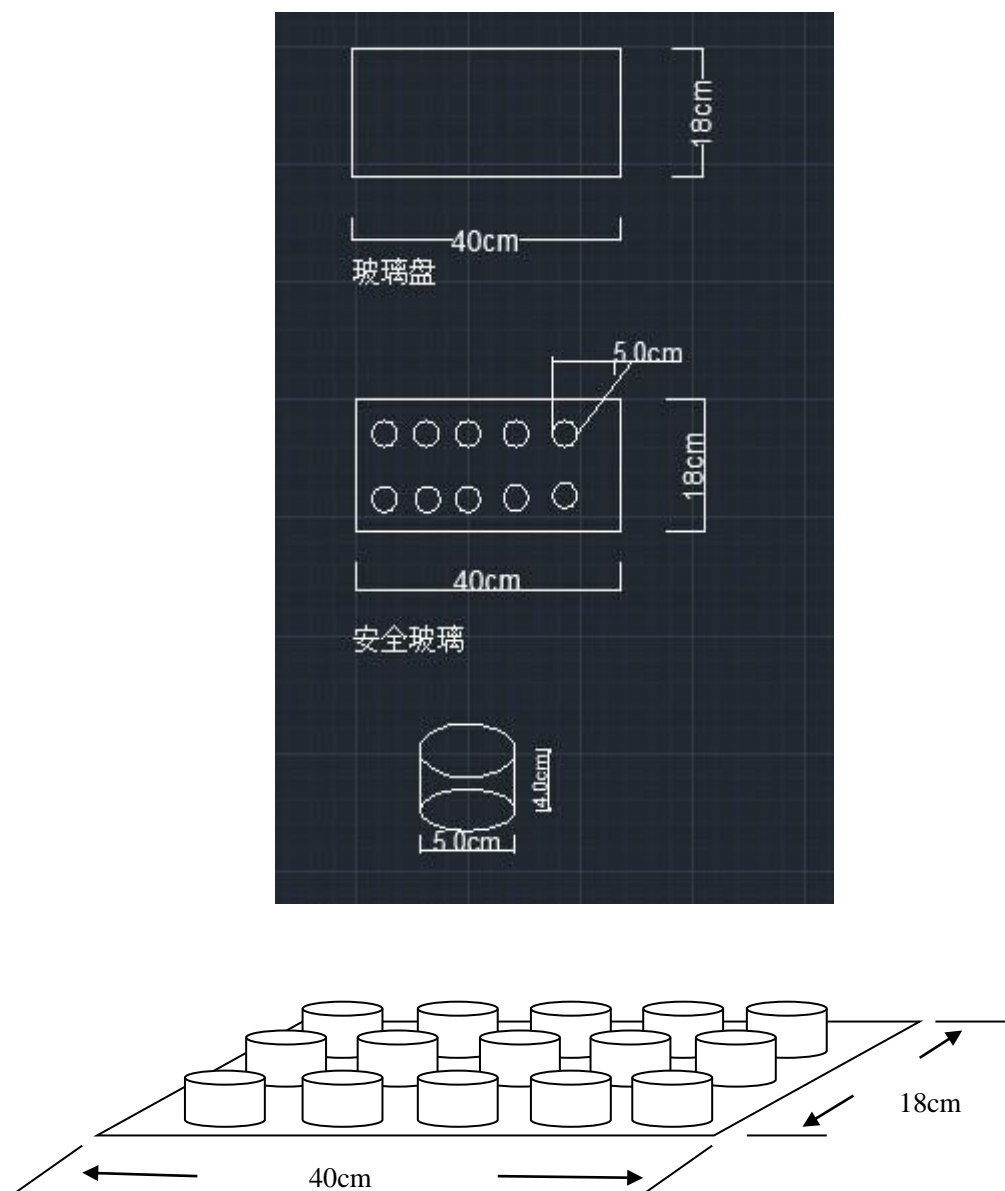


图 1：玻璃板（盘）药膜法试验装置示意图



## 参 考 文 献

- [1] Schmuck R., Candolfi M.P., Kleiner R., Klepka S., Nengel S. and Waltersdoifer A., (1998) Two-step test system using the plant-dwelling non-target insect *Coccinella septempunctata* to generate data for registration of pesticides. In Haskell P.T. and McEwen P. (eds.) *Ecotoxicology-Pesticides and beneficial organisms*. Springer Science+ Business Media B.V. pp 114-121
- [2] Schmuck R., Candolfi M.P., Kleiner R., Mead-Briggs M., Moll M, Kemmeter F., Jans, D., Waltersdorfer A. and Wilhelmy H. (2000) A laboratory test system for assessing effects of plant protection products on the plant dwelling insect *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae). In M.P. Candolfi, S. Blümel, R. Forster, F.M. Bakker, C. Grimm, S.A. Hassan, U. Heimbach, M.A. Mead-Briggs, B. Reber, R. Schmuck and H. Vogt (eds.) 2000: Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. IOBC/WPRS, Gent, pp 45-56
- [3] Bailer, A.J. and Oris, T. (1996) Implications of defining test acceptability in terms of control-group survival in two-group survival studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15, 1242-1244.
- [4] US EPA (2012) Honey bee acute contact toxicity test (OCSPP 850.3020). Ecological effects test guidelines. EPA 712-C-95-147, Washington DC, United States of America.
- [5] OECD (1998b) Guideline 214: Honeybees, acute contact toxicity test, OECD Guidelines for test of chemicals.
- [6] 蔡道基主编. 农药环境毒理学研究. 中国环境科学出版社. 1999.
- [7] 吴红波等. 几种常用杀虫剂对异色瓢虫的敏感性测定[J]. 中国生物防治. 2007. 23(3): 213-217
- [8] 冀禄禄等. 四种杀虫剂对七星瓢虫成虫的室内毒力测定[J]. 山东农业科学. 2011. 5: 74-75
-