

文章编号: 1674-5566(2009)03-0327-05

渔用阿维菌素水乳剂的安全性和药效评价

周 帅^{1,2}, 房文红², 吴淑勤³

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;
2. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090;
3. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380)

摘 要:采用半静态法研究了渔用新制剂阿维菌素水乳剂(EW)对鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、银鲫(*Carassius auratus*)和麦穗鱼(*Pseudorasbora parva*)的急性毒性实验及其对患病草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、银鲫体表锚头鲈的药效实验,且二者均以相同阿维菌素含量的乳油(EC)为参照进行对比,旨在评价水产养殖用阿维菌素水乳剂对养殖鱼类的安全性及其驱虫效果。结果显示,2%阿维菌素水乳剂对鲢、银鲫和麦穗鱼的96 h-LC₅₀分别为2.15 mg/L、1.15 mg/L和1.83 mg/L,安全浓度分别为0.22 mg/L、0.12 mg/L和0.18 mg/L;而对应乳油96 h-LC₅₀为0.98 mg/L、0.57 mg/L和1.08 mg/L,安全浓度为0.09 mg/L、0.06 mg/L和0.1 mg/L;对患锚头鲈的草鱼、银鲫施用0.05 mg/L 2%阿维菌素水乳剂后6 h的校正防效分别为96.27%、91.88%,24 h即达到100%、96.15%;施用0.025 mg/L 2%阿维菌素水乳剂后6 h的校正防效分别为43.65%、68.58%,24 h达到91.56%、90.80%;而施用0.05 mg/L 2%阿维菌素乳油对应的校正防效分别为47.31%、77.46%和95.69%、91.62%,可见相同含量的水乳剂驱虫效果优于乳油。

关键词:阿维菌素;水乳剂;乳油;急性毒性;药效

中图分类号: S 948 **文献标识码:** A

Evaluation of safety and efficacy of abamectin emulsion in water for aquaculture

ZHOU Shuai^{1,2}, FANG Wen-hong², WU Shu-qin³

(1. College Fisheries and Life Science Shanghai Ocean University Shanghai 201306, China;
2. East China Sea Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fisheries Science Key Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries Resources and Ecology Ministry of Agriculture Shanghai 200090, China;
3. Pearl River Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fisheries Science Guangzhou 510380, China)

Abstract: In this article acute toxicity was compared between abamectin emulsion in water (EW) and emulsifiable concentrate (EC) to *Hypophthalmichthys molitrix*, *Carassius auratus* and *Pseudorasbora parva* by semi-static state method. The efficacy between abamectin EW and EC was also evaluated using them to cure *Ctenopharyngodon idella* and *Carassius auratus* which were infected with aquatic parasites—*Lemaea*. The results showed the 96h-LC₅₀ of 2% abamectin EW to *Hypophthalmichthys molitrix*, *Carassius auratus* and *Pseudorasbora parva* were 2.15 mg/L, 1.15 mg/L and 1.83 mg/L, respectively; and the safety concentrations were 0.22 mg/L, 0.12 mg/L and 0.18 mg/L, respectively. While the 96h-LC₅₀ of 2% abamectin EC were

收稿日期: 2008-10-28

基金项目: 国家“十一五”科技攻关项目(2006BAD03B04-03)

作者简介: 周 帅(1984-), 女, 山东菏泽人, 硕士研究生, 专业方向为水产动物病害防治。E-mail: cat_zhou@163.com

通讯作者: 房文红, E-mail: whfang06@yahoo.com.cn

0.98 mg/L, 0.57 mg/L and 1.08 mg/L; the safety concentrations were 0.09 mg/L, 0.06 mg/L and 0.1 mg/L. Abamectin EW is much safer than EC. After using the two formulations (EW and EC) of abamectin, the population size of Lemaea which parasitized *Ctenopharyngodon idella* and *Carassius auratus* had a sharp decline in a short time, especially the 0.05 mg/L 2% abamectin EW, and in six hours the decreasing rate of the quantities of Lemaea on *Ctenopharyngodon idella* and *Carassius auratus* were 96.27% and 91.88%. While the decreasing rate of 0.025 mg/L 2% abamectin EW and 0.05 mg/L 2% abamectin EC were 43.65%, 68.58% and 47.31%, 77.46%. In 24 hrs the decreasing rate of the quantities of Lemaea on *Ctenopharyngodon idella* and *Carassius auratus* were 100%, 96.15%; while the rate of 0.025 mg/L 2% abamectin EW and 0.05 mg/L 2% abamectin EC were 91.53%, 90.90% and 96.08%, 91.66%. It suggested that abamectin EW has a much better efficacy than EC which has the same content of abamectin.

Key words: abamectin; emulsion in water; emulsifiable concentrate; acute toxicity; efficacy

近年来,锚头蚤(Lemaea)、中华蚤(Sinergasilus)、指环虫(Dactylogynis)等水产动物寄生虫病的频频暴发,给我国水产养殖造成了很大的经济损失^[1-2]。所以针对渔用杀虫剂的用药特点,开发高效、安全、环保的新制剂成为水产养殖病害的研究热点。阿维菌素(abamectin)为大环内酯类药物,对线虫、鱼虱、鱼蚤有极强的驱杀作用,现已广泛应用于水产动物体内外寄生虫病的防治^[3]。该药物属于脂溶性药物,易溶于二甲苯、丙酮、二甲基甲酰胺等有机溶剂,而在水中的溶解度极低(0.006 mg/L~0.009 mg/L),所以在水产动物疾病防治中常将其配制成乳油或水乳剂泼洒使用^[4]。不过乳油是以二甲苯为主要溶剂,既不安全又容易污染水质,正逐渐被更加安全、环保的剂型所取代。水乳剂以水为基质,取代了传统乳油中大部分的有机溶剂,成本低、药效高、使用更安全,在水产寄生虫病防治方面有良好的应用前景。目前在农药和兽药领域应用已较为普遍^[5],但是由于渔药使用对象和环境的特殊性,它对制剂分散性和稀释倍数的要求非常高,所以渔用水乳剂的开发难度远大于农药和兽药。本文就本实验室研制的阿维菌素水乳剂对不同养殖鱼类的急性毒性,及其对锚头蚤的杀虫效果展开了研究,并均与同剂量的乳油进行了对比,为渔用阿维菌素水乳剂的进一步开发和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验药品及其来源

阿维菌素原药(有效成分含量>97%,B1a含量95%)由山东齐发药业有限公司提供,配制水乳剂所用的乳化剂由南京科宏化工有限公司、南京太化化工有限公司提供。

实验用的2%阿维菌素水乳剂为本实验室研制,2%阿维菌素乳油由南京某化工企业提供。两种药剂均置于棕色瓶中避光保存,试验时用蒸馏水现配成不同浓度的母液。

1.2 试验鱼的来源和饲养

用于急性毒性试验的鲢取自上海松江某养殖场,鱼体全长为(4.96±0.33)cm,体重(2.02±0.27)g;银鲫、麦穗鱼购自上海市本溪路花鸟鱼市场,鱼体全长分别为(4.50±0.28)cm、(4.36±0.23)cm,体重(1.98±0.35)g、(0.63±0.04)g。试验鱼在室内水族缸暂养7d,不间断充气、定期换水和喂食、及时排污,驯养期间总死亡率小于5%。试验前24h停止喂食,挑选大小相近、健康活泼、体表无伤的个体用于试验,整个试验期间不喂食。

患锚头蚤的草鱼、银鲫取自江苏省兴化市东郊蒋家村的发病鱼塘。草鱼全长为(28.25±3.78)cm,体重(490.37±32.54)g;银鲫全长为(20.07±3.57)cm,体重(201.45±26.39)g。挑选体格一致、较活泼且携带锚头蚤数量相近的个体用于药效试验。

1.3 阿维菌素水乳剂、乳油对鲢、银鲫和麦穗鱼的急性毒性测定

采用半静态法测定阿维菌素水乳剂、乳油对鲢、银鲫和麦穗鱼的急性毒性。试验用水为经充分曝气

的自来水,水温 (23 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$, pH 6.8~7.2,溶氧量 5 mg/L 以上,试验期间不充气。实验容器为圆形塑料盆,其上口直径 35 cm ,下口直径 25 cm ,高 15 cm 。在每个盆中配制 8 L 不同浓度的药液并随机投放 10 条供试鱼,每 24 h 更换 $1/2$ 药液^[6-7]。先选择较大范围的浓度系列进行预试验,根据预试验确定正式试验浓度范围,按等对数间距设置 7 个浓度组(表 1),并设不添加制剂的对照组,每一浓度组重复 3 次。另水乳剂组增设浓度为 5.0 mg/L 的不含原药的乳状液的对照组。

表 1 阿维菌素水乳剂、乳油对不同种类鱼的试验浓度

Tab. 1 The concentrations of abamectin EW, EC to different kinds of fish

试验鱼	水乳剂组试验浓度 (mg/L)							乳油组试验浓度 (mg/L)						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
鲢	1.00	1.31	1.73	2.29	3.01	3.98	5.01	0.63	0.79	1.00	1.26	1.58	2.00	2.51
银鲫	0.76	1	1.31	1.73	2.29	3.01	3.98	0.50	0.63	0.79	1.00	1.26	1.58	2.00
麦穗鱼	1.00	1.31	1.73	2.29	3.01	3.98	5.01	0.63	0.79	1.00	1.26	1.58	2.00	2.51

试验开始后,前 8 h 连续观察,以后不定期观察它们的行为、中毒症状、死亡效应。鱼中毒死亡的标准是鳃盖完全停止活动且鱼体对外物(如玻璃棒或镊子)刺激 30 s 内没有反应,将死鱼及时捞出。记录各试验组鱼 24 h 、 48 h 、 96 h 的死亡数,计算死亡率和校正死亡率,用改进的寇式法^[8-9]求出半致死浓度,并通过经验公式得到安全浓度,即:

$$\text{安全浓度} = 96 \text{ h 的半致死浓度} (96 \text{ h LC}_{50}) \times 0.1$$

1.4 阿维菌素水乳剂、乳油的药效评价

药效试验在江苏省兴化市东郊暴发锚头鲩寄生虫病^[10]的鱼塘旁边的实验室中进行。试验用水来自发病鱼塘,实验容器为 $85 \text{ cm} \times 45 \text{ cm} \times 35 \text{ cm}$ 的塑料水族箱,每个水族箱存放 100 L 池水,水温 (27.0 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$, pH 7.4~7.8,不间断充气。水乳剂的施用剂量设为 0.025 、 0.05 mg/L ,乳油 0.05 mg/L 试验期间不换液。每个水族箱投放患病草鱼 1 条或银鲫 2 条,投放前对每条供试鱼身上附着的锚头鲩计数。每次试验设置一组对照,每个药液浓度重复 6 次。试验开始后,前 6 h 连续观察,之后不定期观察它们的行为、有无中毒症状及虫口减退情况。记录各试验组锚头鲩 6 h 、 12 h 、 24 h 、 48 h 的残虫数,用 Henderson-Tilton公式计算校正防效,按照 $\alpha = 0.05$ (0.01)标准,采用单因素法 LSD 检验分析差异显著性。

$$\text{校正防效} (\%) = \frac{\text{对照区存活率} - \text{防治区存活率}}{\text{对照区存活率}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 阿维菌素水乳剂、乳油两种制剂对鲢、银鲫、麦穗鱼的急性毒性

2.1.1 鲢、银鲫、麦穗鱼对阿维菌素水乳剂、乳油的中毒症状

在阿维菌素水乳剂、乳油对鲢、银鲫、麦穗鱼的急性毒性实验中,3种鱼的中毒症状类似,均表现为神经性的中毒症状。实验开始,鱼类兴奋乱窜,高浓度组在染毒 $4 \sim 8 \text{ h}$ 出现中毒反应,而低浓度组在染毒 $12 \sim 18 \text{ h}$ 表现出异常现象。供试鱼乱窜后较安静,鱼体发黑,逐渐失去平衡,侧翻、仰游,阵发性抽搐颤抖,鳃盖张大,呼吸困难。之后假死水底,对外界刺激反应迟缓、微弱,随呼吸逐渐减弱至死亡,少数浮于水面。死亡鱼颜色变淡,尾部弯曲,体表附少量粘液。腹部肿胀,解剖后腹腔内有黄色粘液流出。

2.1.2 两种阿维菌素制剂对鲢、银鲫、麦穗鱼的半致死浓度和安全浓度

阿维菌素水乳剂、乳油对鲢、银鲫、麦穗鱼的致死情况均表现为,随着试验药物浓度的增加,试验鱼死亡率上升。不含阿维菌素乳状液对照组的试验鱼,未发现不正常行为。3种鱼具体的半致死浓度和安全浓度见表 2。

表 2 阿维菌素水乳剂、乳油对鲢、银鲫、麦穗鱼的半致死浓度和安全浓度
Tab. 2 The results of acute toxicity of Abamectin EW, EC to different kinds of fish

试验药物	试验鱼	半致死浓度 LC ₅₀ (mg/L)				96 h LC ₅₀ 95%置信限 (mg/L)	安全浓度 (mg/L)
		24 h	48 h	72 h	96 h		
2%阿维菌素 水乳剂	鲢	3.51	2.34	2.21	2.15	2.0189~2.2810	0.22
	银鲫	2.37	1.63	1.30	1.15	1.0675~1.2324	0.12
	麦穗鱼	3.67	2.56	2.14	1.83	1.7970~1.8630	0.18
2%阿维菌素 乳油	鲢	1.96	1.47	1.17	0.98	0.9205~1.0395	0.10
	银鲫	1.24	0.80	0.66	0.57	0.5404~0.6046	0.06
	麦穗鱼	2.27	1.51	1.25	1.08	1.0455~1.1145	0.10

结果表明,阿维菌素水乳剂对 3 种鱼的半致死浓度和安全浓度几乎是乳油的两倍,不同种类的鱼对阿维菌素的敏感性不一样。银鲫对 2 种阿维菌素制剂最敏感。

2.2 阿维菌素水乳剂、乳油两种制剂的药效

试验期间,未发现试验鱼出现中毒症状。对照组中只有 1 条草鱼体表的锚头蚤脱落了 1 只,其余的对照均没有发现脱落现象,试验组的锚头蚤脱落后在鱼体表留下了充血红斑,48h 内对照组和试验组鱼体表的虫口减退情况见图 1、图 2。

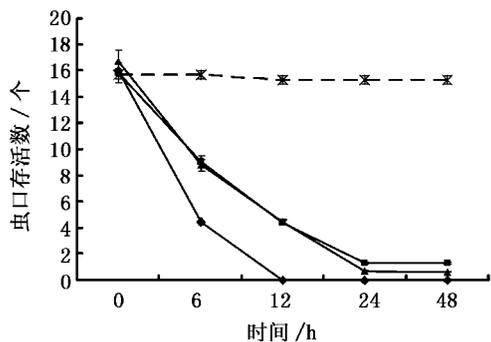


图 1 施药后草鱼体表寄生锚头蚤的虫口减退情况 (n=6)

Fig. 1 The status of the decreasing quantities of Lemaea after using EW, EC of abamectin on *Ctenopharyngodon idellus*

—*—表示对照, —■—表示 0.025 mg/L EW, —◆—表示 0.05 mg/L EW, —▲—表示 0.05 mg/L EC

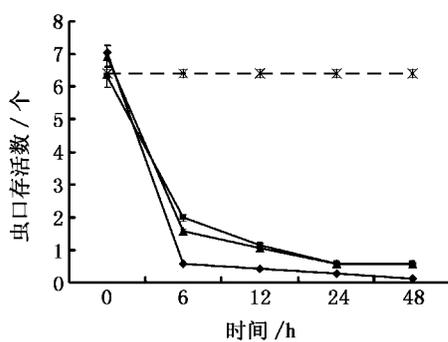


图 2 施药后银鲫体表寄生锚头蚤的虫口减退情况 (n=6)

Fig. 2 The status of the decreasing quantities of Lemaea after using EW, EC of abamectin on *Carassius auratus*

—*—表示对照, —■—表示 0.025 mg/L EW, —◆—表示 0.05 mg/L EW, —▲—表示 0.05 mg/L EC

采用 Henderson-Tilton 公式,根据不同时间病鱼体表的虫口存活数计算校正防效,按照 $\alpha = 0.05$ (0.01) 标准,采用单因素法 LSD 检验分析差异显著性,其结果见表 3。

表 3 对患锚头蚤草鱼、银鲫施用乳剂、乳油两种制剂的阿维菌素的效果

Tab. 3 Effects of abamectin EW, EC on *Ctenopharyngodon idellus* and *Carassius auratus* infected with Lemaea

农药名称 制剂用量 (mg/L)	草鱼			银鲫			
	2%水乳剂		2%乳油	2%水乳剂		2%乳油	
	0.025	0.05	0.05	0.025	0.05	0.05	
校正防效 (%)	施药 6 h	43.65 Aa	96.27 Bb	47.31 Aa	68.58 Aa	91.88 Bb	77.46 Aa
	施药 12 h	72.28 Aa	100.00 Bb	73.15 Aa	81.57 Aa	94.02 Bb	84.69 Aa
	施药 24 h	91.56 Aa	100.00 Bb	95.69 Cab	90.80 Aa	96.15 Bb	91.62 Aa
	施药 48 h	91.56 Aa	100.00 Bb	96.60 Cab	90.80 Aa	98.15 Bb	91.62 Aa

注:标注字母不同者表示组间差异显著,大写字母表示 $\alpha = 0.05$ 时的组间比较,小写字母则表示 $\alpha = 0.01$ 。

从表 3 可以看出,不论是患锚头蚤的草鱼还是银鲫,均为施用 0.05 mg/L 2% 的阿维菌素水乳剂后的效果最好,且前 6 h 药效尤为显著,校正防效分别达到了 96.27%、91.88%、0.025 mg/L 的水乳剂与 0.05 mg/L 的乳油药效比较接近;施药 24 h 后,2 种阿维菌素制剂的药效几乎不再发生变化。

3 讨论

阿维菌素作为一种广谱、高效、用量小的新型农药,现已广泛应用于水产养殖中线虫、鱼虱、鱼蚤等寄生虫病的防治。它几乎不溶于水,对水生生物的毒性较高^[11-12],以液态制剂使用时需先用溶剂溶解,加入适当助剂后配成合适的制剂,故溶剂、助剂的毒性与用量也直接影响到该制剂的安全性。有数据显示,阿维菌素对虹鳟 96 h-LC₅₀为 3.6 μg/L,鲢鱼 96 h-LC₅₀为 24 μg/L,鲤鱼 96 h-LC₅₀为 5.04 μg/L^[13],斑马鱼 96 h-LC₅₀为 0.59 mg/L^[14],大型蚤 48 h-LC₅₀为 2.52 μg/L^[15]。但上述研究很少涉及到不同剂型的阿维菌素对水生生物的急性毒性。顾宝根等^[17]研究了不同高氯菊酯制剂对斑马鱼的毒性作用,结果显示,2.9%乳油的毒性远大于 2.5%微乳剂和水乳剂,且相同含量的微乳剂毒性大于水乳剂。另外,张振玲等^[18]以 SD大鼠为对象研究了不同阿维菌素制剂的毒性作用,结果显示,0.5%阿维菌素乳油对雌、雄大鼠的 LD₅₀为 4 300 mg/kg,3 690 mg/kg 而对应微乳剂的 LD₅₀均大于 4 640 mg/kg 即微乳剂的毒性相对较小。水乳剂用水取代了乳油中大部分的二甲苯,且助剂含量低于微乳剂,这可能是水乳剂毒性相对较小的主要原因^[18]。本实验结果中,阿维菌素水乳剂对三种淡水鱼的急性毒性比其对应的乳油几近减半,这一结果表明水乳剂剂型降低了阿维菌素的毒性,为其在水产养殖中使用提高了安全性。

本实验室研制的阿维菌素水乳剂与相同含量的乳油相比,其分散性和高倍稀释稳定性得到了明显的改善,有助于阿维菌素在水中较快的均匀分布,并及时黏附在患寄生虫病的病鱼体表,可以减少紫外线对制剂中有效成分的分解,充分发挥阿维菌素的药效,提高其生物活性。本研究药效试验结果即可看出,阿维菌素水乳剂比同剂量的乳油有显著的驱虫优势,且用药 1 天后的防治效果就达到 100%。但 2 种阿维菌素制剂第 2 天的药效不明显可能是因为阿维菌素对光敏感,在水中会被氧化、降解^[2],因此贮存阿维菌素时注意避光,在阴暗处存放;使用时也应注意避免与强氧化性化学药物混合使用。

目前养殖生产中已有几种防治锚头蚤、中华蚤的方法,如使用 1%阿维菌素乳油稀释后全池泼洒,每公顷(水深 1 m)水体用药 0.75 L,隔 7 d 后再使用 1 次;用 90%晶体敌百虫全池泼洒,每公顷(水深 1 m)水体用药 4.5 kg,隔 7 d 泼洒 1 次,连续泼洒 3 到 4 次等^[4,19],不过驱虫效果能达到 100%的并不多见。本文从安全性和药效两个方面对渔用阿维菌素水乳剂进行了评价,认为该制剂应用到水产养殖中防治锚头蚤、中华蚤等寄生虫病是可行和有效的。

参考文献:

- [1] 张 伟. 春季鱼病的原因及防治措施 [J]. 中国水产, 2007, (5): 57-58.
- [2] Tatjana Tišler Nevenka Kožuh Eržen. Abamectin in the aquatic environment [J]. *Ecotoxicology*, 2006, 15: 495-502.
- [3] 张 鑫. 阿维菌素应用和市场空间广阔 [J]. 农药市场信息, 2006, 20: 21.
- [4] 扈洪波, 朱蓓蕾, 李俊锁. 阿维菌素类药物的研究进展 [J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(6): 520-529.
- [5] 刘步林. 农药剂型加工技术 [M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 1998: 357-366.
- [6] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1989.
- [7] 张 娜. 鱼类急性毒性实验及其条件选择 [J]. 水利渔业, 1999, 19(6): 6.
- [8] 杨先乐. 新编鱼药手册 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 97-98.
- [9] Koller G, Hungenbühler K, Fent K. Data range in aquatic toxicity of chemicals [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2000, 7(3): 135-143.
- [10] 张剑英, 邱兆社, 丁雪娟. 鱼类寄生虫与寄生虫病 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [11] 齐红莉, 张树林, 戴 伟. 农药对水产动物毒理的研究现状 [J]. 水利渔业, 2005, 25(1): 73-75.
- [12] 扈洪波, 朱蓓蕾. 阿维菌素类药物的毒理学研究进展 [J]. 动物科学与动物医学, 2000, 17(3): 51-52.
- [13] 张启迪, 潘宗海, 刘文华, 等. 阿维菌素对鲟鱼的急性毒性试验研究 [J]. 现代农业科技, 2007, 24: 153.
- [14] 赵于丁, 徐敦明, 刘贤进, 等. 10种农药对斑马鱼的毒性与安全评价 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(22): 6801-6802.
- [15] 刘少颖, 朱国念, 李少南. 几种杀虫剂对大型蚤的急性和慢性毒性 [J]. 中国农药, 2007, (6): 79-83.
- [16] 张振玲, 史 岩, 张树来, 等. 阿维菌素制剂的毒性作用 [J]. 卫生毒理学杂志, 2003, 17(2): 114-116.
- [17] 顾宝根, 王慧敏, 陈隆智. 高效氯氟菊酯在稻田使用后对水生生物的安全性研究 [J]. 农药学报, 2006, 8(1): 56-60.
- [18] 魏方林, 朱金文, 李少南, 等. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐乳油对环境生物的急性毒性研究 [J]. 农药科学管理, 2008, 29(3): 19-24.
- [19] 孙克年. 鱼类锚头蚤病的治疗方法精选 [J]. 渔业致富指南, 2005, (1): 51.