

◆ 残留与环境 ◆

三种苦参碱制剂对非靶标生物的毒性研究

吴 迟¹, 孙 田², 何明远², 蒋红云¹, 张 兰¹, 张燕宁¹, 毛连纲¹, 朱丽珍¹, 郑永权¹, 刘新刚^{1*}

(1. 中国农业科学院植物保护研究所 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193; 2. 广西思浦林科技有限公司, 南宁 530001)

摘要:通过研究3种苦参碱制剂对非靶标生物的急性毒性效应,以评价不同苦参碱制剂对非靶标生物的毒性风险。结果表明,0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂对日本鹌鹑和蜜蜂已达到试验条件下可达到的最高剂量,未产生明显的毒性效应。0.6%苦参碱可溶液剂对日本鹌鹑的毒性为高毒,对蜜蜂的毒性为低毒。0.6%苦参碱可溶液剂、0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂对家蚕的毒性分别为中毒、低毒和高毒;对斑马鱼的毒性分别为中毒、高毒和高毒;对大型溞的毒性分别为中毒、中毒和剧毒。由此可见,虽然苦参碱作为植物源农药具有对环境友好等特点,但其制剂产品可能对部分非靶标生物具有毒性效应。因此,在剂型研制过程中,建议选用高效安全的助剂,以避免使用过程中对非靶标生物造成危害。

关键词:苦参碱;制剂;植物源农药;非靶标生物;毒性

中图分类号:TQ 450.2⁺6 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2021.06.009

Study on Toxicity of Three Matrine Preparations to Non-target Organisms

WU Chi¹, SUN Tian², HE Mingyuan², JIANG Hongyun¹, ZHANG Lan¹, ZHANG Yanning¹, MAO Liangang¹, ZHU Lizhen¹, ZHENG Yongquan¹, LIU Xingang^{1*}

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Guangxi SPR Technology Co., Ltd., Nanning 530001, China)

Abstract: The acute toxicity effect of three matrine preparations on non-target organisms were studied to evaluate the toxicity risks. 0.5% matrine AS and 0.3% matrine WP reached the highest doses that could be achieved under the test conditions, and had no obvious toxic effects on Japanese quail and honeybees. 0.6% matrine SL was high toxicity to Japanese quail and low toxicity to honeybees. Toxicity of 0.6% matrine SL, 0.5% matrine AS and 0.3% matrine WP were medium toxicity, low toxicity and high toxicity to silkworms, respectively; medium toxicity, high toxicity and high toxicity to zebrafish, respectively; medium toxicity, medium toxicity and hyper toxicity to daphnia, respectively. Although matrine is an environment-friendly botanical pesticide, matrine preparations may have toxic effect on some non-target organisms. Therefore, it is suggested that efficient and environment-friendly adjuvants should be used in order to reduce the harm to non-target organisms when preparations are applied to farm fields.

Key words: matrine; preparation; botanical pesticide; non-target organism; toxicity

我国是农业大国,农药在生产生活中发挥着非常重要的作用^[1]。近年来,随着环保意识的提高和可持续发展的需要,生物农药受到了广泛关注。2020

年2月,农业农村部印发的《2020年种植业工作要点》中就包括完善农药登记审批“绿色通道”政策。该政策为生物农药的登记创造了良好的环境^[2],也为生

收稿日期:2021-05-31

作者简介:吴迟(1989—),男,湖南长沙人,博士,主要从事农药残留与环境毒理工作。E-mail: rchi19890715@sina.com

通信作者:刘新刚(1978—),男,山东潍坊人,博士,研究员,主要从事农药环境行为归趋及风险评估,农药环境生物有效性及污染防控工作。E-mail: liuxingang@caas.cn

物农药的发展创造了有利的条件。植物源农药历史悠久,具有种类多、作用方式特异、不易产生抗药性、对环境友好等特点^[3],成为生物农药的首选之一。

目前,苦参碱是登记数量最多的植物源农药。根据中国农药信息网^[4],截至2020年10月,获得登记许可且在有效期内的苦参碱农药品种共121个。苦参碱是一种从苦参和苦豆子等植物中提取出的生物碱,具有杀虫、杀螨、杀菌等生物活性^[5-7],在农业领域被广泛关注和应。目前,关于苦参碱的防控作用国内外均有报道,如苦参碱可用于防控茶尺蠖^[8];对黑腹果蝇成虫具有杀虫活性^[9],能够有效控制棉蚜种群数量^[10];对白蚁具有强烈的拒食作用^[11];对枸杞刺皮瘿螨可达到较好的的防效,且对天敌安全性较高^[12];对苹果树腐烂病防效优异^[13]等。

关于苦参碱对环境安全性的研究也有相关报道。豆敏详等^[14]研究表明,苦参碱原药对非靶标生物鹌鹑、意大利蜜蜂、家蚕和斑马鱼等均为低毒。然而,在苦参碱加工生产过程中,一般会添加助剂以制成不同剂型,便于田间使用。然而,部分农药助剂中含有多种有害化学品^[15],如有机硅对大型溞的存活、生长和繁殖等都有一定程度的影响,并且是对成年蜜蜂毒性最大的助剂之一^[16-17];壬基酚聚氧乙烯醚可导致斑马鱼胚胎死亡、胚胎畸形,以及限制斑马鱼的生长等^[18]。目前,在我国,苦参碱主要登记剂型为可溶液剂、水剂和可湿性粉剂等,但关于苦参碱制剂对生态系统中的非靶标生物的毒性效应研究较少。因此,本研究主要依据GB/T 31270—2014《化学农药环境安全评价试验准则》标准^[19]、美国国家环境保护局(EPA)和经济合作与发展组织(OECD)准则^[20-24],分别测定了3种苦参碱制剂对以下非靶标生物——日本鹌鹑(*Coturnix japonica*)、意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.)、家蚕(*Bombyx mori*

L.)、斑马鱼(*Danio rerio*)和大型溞(*Daphnia magna*)的急性毒性效应,以确定农药助剂是否影响苦参碱对非靶标生物的毒性,并为苦参碱制剂在田间合理使用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试农药。0.6%苦参碱可溶液剂,山东拜沃生物技术有限公司;0.5%苦参碱水剂,江西丰源生物高科有限公司;0.3%苦参碱可湿性粉剂,烟台绿云生物科技有限公司;95.0%苦参碱标准品,北京勤诚亦信科技开发有限公司。

供试生物。日本鹌鹑:选用同批孵化出壳的鹌鹑,试验用鸟为30日龄,平均体重为97.2 g;意大利蜜蜂:选择健康无病、大小一致的成年工蜂用于试验;家蚕:品种为“九芙×七湘”,试验用蚕为二龄起蚕;斑马鱼:平均全长为1.92 cm,平均体重为0.065 0 g;大型溞:处于孤雌生殖状态,未出现雄溞和冬卵,试验用溞为培养3代以上、出生24 h以内的非头胎溞。

供试生物的品系和来源如表1所示。依据GB/T 31270—2014《化学农药环境安全评价试验准则》^[19]开展的意大利蜜蜂、家蚕、斑马鱼和大型溞参比物质试验结果见表2,其毒性端点值和95%置信限均在可接受范围内,表明试验体系和供试生物有效可靠,可用于急性毒性试验。

表1 供试生物信息

供试生物	品系	来源
鸟	日本鹌鹑	南宁市万家隆农业投资有限公司
蜜蜂	意大利蜜蜂	广西农业科学院园艺研究所
家蚕	家蚕	广西壮族自治区蚕业技术推广总站
鱼	斑马鱼	广西思浦林科技有限公司
溞	大型溞	会同县笨虫啾呀水产店

表2 参比物质试验结果

供试生物	回归方程	R ²	毒性端点值	95%置信限	接受范围
蜜蜂(经口)	y=6.697+7.385 x	0.945	0.124 μg a.i./蜂	0.119~0.140 μg a.i./蜂	0.10~0.35 μg a.i./蜂
蜜蜂(接触)	y=14.330+14.644 x	0.973	0.105 μg a.i./蜂	0.103~0.107 μg a.i./蜂	0.10~0.30 μg a.i./蜂
家蚕	y=-14.630+4.222 x	0.997	2.92×10 ³ mg a.i./L	2.73×10 ³ ~3.12×10 ³ mg a.i./L	未推荐
斑马鱼	y=-24.967+10.079 x	0.983	300 mg a.i./L	290~312 mg a.i./L	200~400 mg a.i./L
大型溞	y=-0.174+3.770 x	0.998	1.11 mg a.i./L	1.04~1.19 mg a.i./L	0.60~2.10 mg a.i./L

仪器设备。分析天平、半微量天平、便携式pH计、便携式溶解氧测定仪、便携式溶解氧测定仪,梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;水质硬度计,上海三信仪表厂;岛津LC-20AT高效液相色谱仪、InertSustain C₁₈色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),

岛津企业管理(中国)有限公司;旋转蒸发仪,上海力辰邦西仪器科技有限公司;多管漩涡混合器,常州杰博森仪器有限公司;智能人工气候箱,宁波海曙赛福实验仪器厂;不锈钢鸟笼(60 cm × 50 cm × 40 cm)。

1.2 试验方法

本研究根据GB/T 31270—2014《化学农药环境安全评价试验准则》^[19]、EPA和OECD系列准则(No. 213、No.214、No.203、No.202)^[20-24]进行供试农药对非靶标生物的毒性效应研究,并建立分析方法对水生生物试验溶液进行真实浓度检测。

1.2.1 非靶标生物毒性试验

鸟类急性经口毒性试验。采用直接灌喂供试农药的方式进行经口染毒。将0.6%苦参碱可溶液剂设置成浓度为25.0、30.8、37.8、46.5和57.2 mg a.i./kg·bw 5个试验处理,0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂受样品含量限制,分别设置了上限浓度为51.0 mg a.i./kg·bw和12.4 mg a.i./kg·bw试验处理,同时设置空白对照组。每个处理为10只鹌鹑(雌雄各半)。染毒后8 h以及随后连续7 d观察鹌鹑的中毒症状与死亡情况,并计算7 d-LD₅₀(半致死剂量)。

蜜蜂急性毒性试验。急性经口毒性:用50%蔗糖水配制试验溶液,将0.6%苦参碱可溶液剂设置成浓度为24.9、29.9、35.9、43.1、51.7和62.0 μg a.i./蜂6个试验处理,0.5%苦参碱水剂设置成浓度为3.12、6.25、12.50、25.00和50.00 μg a.i./蜂5个试验处理,将0.3%苦参碱可湿性粉设置成浓度为0.625、1.250、2.500、5.000和10.000 μg a.i./蜂5个试验处理,同时设置空白对照组。每处理3个重复,每重复10只蜜蜂。取200 μL上述试验溶液供蜜蜂取食,根据取食量计算实际染毒剂量,于染毒后24和48 h观察记录蜜蜂的中毒症状和死亡数,并计算48 h-LD₅₀。急性接触毒性:采用0.6%苦参碱可溶液剂和0.5%苦参碱水剂直接染毒。取2.00 μL供试农药点于麻醉后蜜蜂的中胸背板处,得到染毒浓度分别为12.1和10.2 μg a.i./蜂的试验处理,0.3%苦参碱可湿性粉剂受剂型限制,设置上限染毒浓度为0.90 μg a.i./蜂试验处理,同时设置空白对照组。每处理3个重复,每重复10只蜜蜂,于染毒后24和48 h观察记录蜜蜂的中毒症状和死亡数,并计算48 h-LD₅₀。

家蚕急性毒性试验。采用浸叶法进行染毒。将0.6%苦参碱可溶液剂设置成浓度为10.0、16.4、26.9、44.1、72.3、119.0和195.0 mg a.i./L 7个试验处理;将0.5%苦参碱水剂设置成浓度为2.00 × 10³ mg a.i./L试验处理;将0.3%苦参碱可湿性粉剂设置成浓度为0.500、0.825、1.360、2.250、3.710、6.110和10.100 mg a.i./L 7个试验处理,同时设置空白对照组。每处理3个重复,每重复20头家蚕。用50 mL试验溶液浸渍约5 g桑叶,使药液均匀分布在叶面上,取出阴干后,

用于家蚕饲喂染毒,于染毒后24、48、72和96 h观察记录家蚕的中毒症状及死亡情况,并计算96 h-LC₅₀(半致死浓度)。

鱼类急性毒性试验。采用静态法进行染毒,试验期间不更换试验溶液。将0.6%苦参碱可溶液剂设置成浓度为1.00、1.24、1.54、1.91、2.36和2.93 mg a.i./L 6个试验处理;将0.5%苦参碱水剂设置成浓度为0.100、0.132、0.174、0.230、0.304和0.401 mg a.i./L 6个试验处理;将0.3%苦参碱可湿性粉剂设置成浓度为0.065 0、0.085 2、0.112 0、0.146 0、0.191 0和0.251 0 mg a.i./L 6个试验处理,同时设置空白对照组。每个处理为7尾鱼,于染毒后6、24、48、72和96 h观察和记录斑马鱼的中毒症状及死亡情况,并计算96 h-LC₅₀。

溞类急性活动抑制试验。采用静态法进行染毒,试验期间不更换试验溶液。将0.6%苦参碱可溶液剂设置成浓度为1.00、1.58、2.50、3.94、6.23和9.85 mg a.i./L 6个试验处理;将0.5%苦参碱水剂设置成浓度为1.05、1.61、2.46、3.76、5.75和8.80 mg a.i./L 6个试验处理;将0.3%苦参碱可湿性粉剂设置成浓度为0.020 0、0.027 6、0.038 1、0.052 6、0.072 5和0.100 0 mg a.i./L 6个试验处理,同时设置空白对照组。每处理4个重复,每重复5只溞,于染毒后24和48 h观察记录大型溞的中毒症状及受抑制情况,并计算48 h-EC₅₀(半抑制浓度)。

1.2.2 仪器条件分析方法建立

采用岛津LC-20AT高效液相色谱仪对苦参碱进行真实浓度检测。色谱条件:色谱柱为InertSustain C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),进样体积为20 μL,柱温箱为40℃,流动相为乙腈与0.02%三乙胺水溶液(40.0:60.0, V/V),流速为1.000 mL/min;检测器为PDA二极管阵列检测器,检测波长为200 nm;保留时间为4.04 min。

前处理方法。采集10.000 mL供试水样于离心管中,加入10.000 mL乙酸乙酯漩涡振荡萃取。加入适量的氯化钠再次振荡萃取,静置分层。转移上层有机相至旋蒸瓶中,重复提取1次。合并有机相,旋蒸至干。吸取1.000 mL乙腈(色谱纯)至旋蒸瓶中,洗涤内壁,过0.22 μm滤膜,上机检测。

水样检测。分别在鱼类急性毒性试验和溞类急性活动抑制试验开始和结束时采集试验溶液,并对苦参碱进行真实浓度检测。

1.3 数据分析与毒性等级划分

采用统计软件SPSS 25.0概率回归分析计算毒性端点值,并根据GB/T 21270—2014《化学农药环

境安全评价试验准则》判断供试农药对不同非靶标生物的毒性等级。

2 结果与分析

2.1 3种苦参碱制剂对供试生物的急性毒性效应

试验期间,对照组供试生物无死亡或受抑制情况,且未出现任何中毒症状。在日本鹌鹑急性毒性试验中,用0.6%苦参碱可溶液剂处理的日本鹌鹑出现闭眼打盹的症状;在0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂的试验处理组中,日本鹌鹑表现正常,未出现任何症状。在蜜蜂急性经口毒性试验中,用0.6%苦参碱可溶液剂处理的蜜蜂出现失去平衡、行动缓慢、身体蜷缩、双翅张开的症状;在0.5%苦参碱水剂试验处理组中,蜜蜂表现正常,无不良症状;在0.3%苦参碱可湿性粉剂的试验处理组中,蜜蜂出现身体蜷缩和双翅张开的症状。在蜜蜂急性接触试验中,用3种苦参碱制剂处理的蜜蜂均无不良症状。在家蚕急性毒性试验中,用0.6%苦参碱可溶液剂

和0.3%苦参碱可湿性粉剂处理的家蚕均出现吐液现象,0.5%苦参碱水剂未对家蚕造成不良影响。在鱼类急性毒性试验中,用3种苦参碱制剂处理的斑马鱼均出现游动缓慢和失去平衡的现象,0.5%苦参碱水剂试验处理组中,斑马鱼还出现了身体弯曲的情况。在溞类急性活动抑制试验中,3种苦参碱制剂对大型溞均造成游动能力减弱的影响。

2.2 3种苦参碱制剂真实浓度检测

分别在鱼类急性毒性试验和溞类急性活动抑制试验开始和结束时采集试验溶液,并对苦参碱进行真实浓度检测。在本实验室条件下,0.6%苦参碱可溶液剂、0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂对鱼类急性毒性试验的浓度偏差的最大值分别为10.00%、15.00%和16.23%,对溞类急性活动抑制试验的浓度偏差最大值分别为11.17%、6.91%和16.01%。苦参碱实测浓度相对稳定,浓度偏差均保持在理论浓度的 $\pm 20\%$,因此使用理论浓度计算毒性端点值^[25-26]。3种苦参碱制剂对水生生物急性毒性试验的暴露浓度见表3。

表3 水生生物急性毒性试验暴露浓度

供试农药	鱼类急性毒性试验					溞类急性活动抑制试验				
	理论浓度/ (mg a.i.·L ⁻¹)	0 h实测浓度/ (mg a.i.·L ⁻¹)	0 h浓度 偏差/%	96 h浓度/ (mg a.i.·L ⁻¹)	96 h浓度 偏差/%	理论浓度/ (mg a.i.·L ⁻¹)	0 h实测浓度/ (mg a.i.·L ⁻¹)	0 h浓度 偏差/%	48 h浓度/ (mg a.i.·L ⁻¹)	48 h浓度 偏差/%
0.6%苦参碱可溶液剂	1.00	1.08	8.00	1.10	10.00	1.00	1.08	8.00	1.08	8.00
	1.24	1.32	6.45	1.32	6.45	1.58	1.72	8.86	1.58	0.00
	1.54	1.58	2.60	1.59	3.25	2.50	2.44	2.40	2.41	3.60
	1.91	1.98	3.66	1.98	3.66	3.94	3.94	0.00	3.50	11.17
	2.36	2.44	3.39	2.45	3.81	6.23	6.12	1.77	6.03	3.21
	2.93	3.02	3.07	3.01	2.73	9.85	9.90	0.51	9.74	1.12
0.5%苦参碱水剂	0.100	0.105	5.00	0.115	15.00	1.05	1.03	1.90	0.99	6.10
	0.132	0.138	4.55	0.138	4.55	1.61	1.62	0.62	1.56	3.11
	0.174	0.174	0.00	0.177	1.72	2.46	2.61	6.10	2.62	6.50
	0.230	0.235	2.17	0.229	0.43	3.76	4.02	6.91	3.90	3.72
	0.304	0.301	0.99	0.299	1.64	5.75	5.92	2.96	5.86	1.91
	0.401	0.412	2.74	0.381	4.99	8.80	8.97	1.93	8.70	1.14
0.3%苦参碱可湿性粉剂	0.065 0	0.061 0	6.15	0.059 1	9.08	0.020 0	0.019 2	4.00	0.018 6	7.00
	0.085 2	0.081 4	4.46	0.078 7	7.63	0.027 6	0.024 7	10.51	0.024 4	11.59
	0.112 0	0.101 0	9.82	0.114 0	1.79	0.038 1	0.035 9	5.77	0.032 0	16.01
	0.146 0	0.139 0	4.79	0.135 0	7.53	0.052 6	0.051 2	2.66	0.051 6	1.90
	0.191 0	0.165 0	13.61	0.160 0	16.23	0.072 5	0.070 7	2.48	0.068 8	5.10
	0.251 0	0.249 0	0.80	0.251 0	0.00	0.100 0	0.094 3	5.70	0.095 9	4.10

2.3 3种苦参碱制剂对供试生物的毒性试验结果

因受样品含量和剂型限制,0.6%苦参碱可溶液剂对蜜蜂接触的毒性试验、0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂对日本鹌鹑和蜜蜂的毒性试验均采用最高剂量进行染毒暴露。结果显示,0.6%苦参

碱可溶液剂对蜜蜂接触的LD₅₀值大于12.1 μg a.i./蜂;0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂对日本鹌鹑的LD₅₀值分别大于51.0和12.4 mg a.i./kg·bw,对蜜蜂经口的LD₅₀值分别大于29.2和1.1 μg a.i./蜂,对蜜蜂接触的LD₅₀值分别大于10.2和0.9 μg a.i./蜂。由此可见,3种苦参碱达到最高剂量时未对日本鹌

鹌和蜜蜂造成明显的毒害。

除此之外,供试生物的死亡率随苦参碱浓度的升高而升高,呈现出显著的浓度/剂量-效应关系。结果显示,0.6%苦参碱可溶液剂对日本鹌鹑和蜜蜂经口的LD₅₀值分别为42.8 mg a.i./kg·bw和21.1 μg a.i./蜂,毒性分别为高毒和低毒。0.6%苦参碱可溶液剂、0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂对家蚕

的LC₅₀值分别为44.40、大于2.00×10³和3.07 mg a.i./L,毒性分别为中毒、低毒和高毒;对斑马鱼的LC₅₀值分别为1.660、0.213和0.120 mg a.i./L,毒性分别为中毒、高毒和高毒;对大型蚤的LC₅₀值分别为3.26、2.47和4.58×10⁻² mg a.i./L,毒性分别为中毒、中毒和剧毒。3种苦参碱制剂对供试生物的急性毒性试验结果见表4。

表4 3种苦参碱制剂对供试生物急性毒性试验结果

供试生物	供试农药	回归方程	R ²	毒性端点值	95%置信限	毒性等级
日本鹌鹑	0.6%苦参碱可溶液剂	y=-15.341+9.401 x	0.994	42.8 mg a.i./kg·bw	41.4~44.4 mg a.i./kg·bw	高毒
	0.5%苦参碱水剂			>51.0 mg a.i./kg·bw		
	0.3%苦参碱可湿性粉剂			>12.4 mg a.i./kg·bw		
蜜蜂-经口	0.6%苦参碱可溶液剂	y=-12.202+9.219 x	0.987	21.1 μg a.i./蜂	20.5~21.7 μg a.i./蜂	低毒
	0.5%苦参碱水剂			>29.2 μg a.i./蜂		低毒
	0.3%苦参碱可湿性粉剂			>1.1 μg a.i./蜂		
蜜蜂-接触	0.6%苦参碱可溶液剂			>12.1 μg a.i./蜂		低毒
	0.5%苦参碱水剂			>10.2 μg a.i./蜂		
	0.3%苦参碱可湿性粉剂			>0.9 μg a.i./蜂		
家蚕	0.6%苦参碱可溶液剂	y=-3.448+2.093 x	0.991	44.40 mg a.i./L	39.50~50.00 mg a.i./L	中毒
	0.5%苦参碱水剂			>2.00×10 ³ mg a.i./L		低毒
	0.3%苦参碱可湿性粉剂	y=-1.361+2.792 x	0.994	3.07 mg a.i./L	2.79~3.39 mg a.i./L	高毒
斑马鱼	0.6%苦参碱可溶液剂	y=-1.685+7.696 x	0.987	1.660 mg a.i./L	1.590~1.730 mg a.i./L	中毒
	0.5%苦参碱水剂	y=4.499+6.700 x	0.997	0.213 mg a.i./L	0.201~0.225 mg a.i./L	高毒
	0.3%苦参碱可湿性粉剂	y=6.394+6.951 x	0.998	0.120 mg a.i./L	0.114~0.127 mg a.i./L	高毒
大型蚤	0.6%苦参碱可溶液剂	y=-1.550+3.018 x	0.980	3.26 mg a.i./L	2.96~3.62 mg a.i./L	中毒
	0.5%苦参碱水剂	y=-1.280+3.260 x	0.984	2.47 mg a.i./L	2.26~2.70 mg a.i./L	中毒
	0.3%苦参碱可湿性粉剂	y=5.100+3.809 x	0.987	4.58×10 ⁻² mg a.i./L	4.23×10 ⁻² ~4.94×10 ⁻² mg a.i./L	剧毒

3 结论与讨论

急性毒性试验结果表明,0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂对日本鹌鹑和蜜蜂已达到试验条件下可达到的最高剂量,但未产生明显的毒性效应。0.6%苦参碱可溶液剂对日本鹌鹑的毒性为高毒,对蜜蜂的毒性为低毒。0.6%苦参碱可溶液剂、0.5%苦参碱水剂和0.3%苦参碱可湿性粉剂对家蚕的毒性分别为中毒、低毒和高毒,对斑马鱼的毒性分别为中毒、高毒和高毒,对大型蚤的毒性分别为中毒、中毒和剧毒。由此可见,不同的苦参碱制剂对非靶标生物毒性影响存在差异。

苦参碱原药对鹌鹑、家蚕、蜜蜂经口和斑马鱼均为低毒,毒性端点值分别为512 mg a.i./kg·bw、大于3 000 mg a.i./L、1 145 mg a.i./L和85 mg a.i./L^[14]。本研究所使用的3种苦参碱制剂对非靶标生物的毒性相对苦参碱原药较高,特别对于斑马鱼和大型蚤毒性为中高毒,甚至剧毒。这一结果与川楝素和雷公藤生物碱等植物源农药的毒性结果较为相似,即

78%川楝素原药对鹌鹑和蝌蚪均为低毒,但0.5%川楝素乳油对鹌鹑中毒,蝌蚪高毒^[27]。95%雷公藤总生物碱对蝌蚪为低毒,但1.0%雷公藤生物碱微乳剂对蝌蚪为高毒^[28]。同时也有研究表明,部分化学农药的制剂产品对非靶标生物的毒性高于原药的毒性,如百菌清和双甲脒的制剂产品对蜜蜂的经口毒性至少是原药的4倍^[29];二嗪磷原药对鹌鹑为高毒,但其乳油和颗粒剂产品对鹌鹑则为剧毒^[30];硝磺草酮不同剂型对斑马鱼的急性毒性顺序由大到小依次为:悬浮剂、可分散悬浮剂、水分散粒剂、原药^[31]。Caroline等^[32]研究表明,部分农药助剂具有增强发育神经毒性、遗传毒性和扰乱激素功能等危害,还可能增强农药制剂对微生物、植物、鱼类和两栖动物的毒性等。姜锦林等^[33]调查发现,常用溶剂甲醇、乙醇、丙酮等在低浓度条件下对水生生物慢性影响较小,但甲苯、二甲苯等对生物存在重大慢性风险,表面活性剂可改变细胞膜通透性,造成细胞内容物外渗,影响细胞的正常代谢活动,最终导致细胞死亡,对水生生物产生不利影响。在101种助剂的毒性调

查中,发现4%以上的助剂具有中等毒性,玫瑰精、甲苯、二甲苯、环己酮和壬基酚等具有致癌性、致畸性、致突变性、内分泌干扰性、繁殖损伤和神经毒性等健康风险。因此,苦参碱制剂毒性增高可能与其中添加的农药助剂有关。

根据NY/T 2882—2016《农药登记环境风险评估指南》^[34],笔者进行0.6%苦参碱可溶液剂对日本鹌鹑的急性毒性风险评估,得到风险商值最大值为0.074,即该制剂产品对日本鹌鹑的风险可接受。由此可见,农药对环境非靶标生物的危害不仅取决于农药对非靶标生物的毒性危害,还与农药施用后在环境中的暴露浓度有关。尽管不同剂型的毒性差异较大,但鉴于苦参碱易降解,在不同土壤和不同自然水体中的半衰期均不超过15 d^[35-36],在环境中的暴露浓度较低,其风险可接受。

随着人们对环境保护和生态安全等方面的重视,农药助剂的安全性也受到了广泛关注。目前,美国、澳大利亚和欧洲等地区已出台了关于农药助剂的管理和登记办法^[37]。我国农药登记管理中虽暂未明确规定农药助剂的信息要求,但已开始加强对农药助剂的管理。因此,在大力开发苦参碱等对环境安全的农药的同时,研究开发和应用毒性低、对环境友好、可增强药效的农药助剂也越来越重要。

综上所述,虽然苦参碱作为植物源农药具有对环境友好的特点,但本研究结果表明,苦参碱制剂对部分非靶标生物毒性较高,可能与农药制剂中添加的助剂有关。因此,在植物源农药的剂型研制中,建议选用更加高效安全的助剂,以避免对非靶标生物造成危害。

参考文献

- [1] 康平. 绿色发展时代,植物源农药前景看好[J]. 农药市场信息, 2020(13): 1.
- [2] 农业农村部办公厅. 关于印发2020年种植业工作要点的通知. 农办农〔2020〕1号[A/OL]. (2020-02-13) [2020-10-17]. http://www.moagov.cn/ztlz/2020gzzd/gsjgzdyd/202002/t20200213_6337047.htm.
- [3] 张兴, 马志卿, 冯俊涛, 等. 植物源农药研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 685-698.
- [4] 中国农药信息网. 农药登记数据[EB/OL] (2020-10-17). <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>.
- [5] 章冰川, 徐晖. 苦参碱及其类似物的农用生物活性及结构修饰研究进展[J]. 农药学学报, 2019, 21(增刊1): 609-626.
- [6] 李艳艳, 冯俊涛, 张兴, 等. 苦豆子化学成分及其生物活性研究进展[J]. 西北农业学报, 2005(2): 133-136; 140.
- [7] 袁静, 张宗俭, 丛斌. 苦参碱的生物活性及其研究进展[J]. 农药, 2003(7): 1-4.

- [8] 吴庆丽, 秦刚, 黄艳飞, 等. 3种植物源农药对茶尺蠖的防治效果[J]. 农药, 2020, 59(5): 379-381; 390.
- [9] 黄雪峰, 吴梅香, 罗佳, 等. 4种植物源农药对食用菌重要害虫黑腹果蝇的生物活性测定[J]. 热带作物学报, 2013, 34(4): 747-750.
- [10] 张谦, 祁虹, 王燕, 等. 植物源杀虫剂对棉花蚜虫防治效果比较[J]. 农药, 2020, 59(3): 223-225; 230.
- [11] MAO L X, HENDERSON G. Antifeedant activity and acute and residual toxicity of alkaloids from *Sophora flavescens* (leguminosae) against formosan subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 2007, 100(3): 866-870.
- [12] 任月萍, 刘生祥. 苦参素农药对枸杞刺皮瘿螨的室内毒力测定及药效试验[J]. 农业科学研究, 2005(3): 40-42.
- [13] 孟晶岩, 高忠东, 王贤苹, 等. 0.5%苦参碱水剂对苹果树腐烂病菌的室内毒力测定和田间药效试验[J]. 山西农业科学, 2009, 37(2): 47-49.
- [14] 豆敏详, 史晓玲, 马志卿, 等. 4种苦参碱制品对非靶标生物的毒性评价[J]. 农药学学报, 2018, 20(1): 49-57.
- [15] CAROLINE C. Inert ingredients in pesticides: who's keeping secrets?[J]. Journal of Pesticide Reform, 1999, 19(3): 2-7.
- [16] 李秀环. 常用农药助剂对大型溞的毒性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [17] MULLIN C A, CHEN J, FINE J D, et al. The formulation makes the honey bee poison[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2015, 120:27-35.
- [18] 姜锦林, 单正军, 程燕, 等. 常用农药助剂类产品对水生生物效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(4): 45-58.
- [19] 中华人民共和国国家环境保护部. GB/T 31270—2014 化学农药环境安全评价试验准则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [20] EPA. Ecological effects test guidelines, OPPTS 850.2100: avian acute oral toxicity test[S]. Washington DC: US EPA, 2001.
- [21] OECD. Guidelines for testing of chemicals, no. 213: honey-bees, acute oral toxicity test[S]. Paris: OECD, 1998.
- [22] OECD. Guidelines for testing of chemicals, no. 214: honeybees, acute contact toxicity test[S]. Paris: OECD, 1998.
- [23] OECD. Guidelines for testing of chemicals, no. 203: fish, acute toxicity test[S]. Paris: OECD, 2019.
- [24] OECD. Guidelines for testing of chemicals, no. 202: daphnia sp., acute immobilization test[S]. Paris: OECD, 2004.
- [25] 中华人民共和国农业部. NY/T 3273—2018 难处理农药水生生物毒性试验指南[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- [26] OECD. Guidance document on aqueous-phase aquatic toxicity testing of difficult test chemicals, no. 23: series on testing and assessment[S]. Paris: OECD, 2019.
- [27] 张亚妮, 马志卿, 王海鹏, 等. 植物源杀虫剂川楝素对环境生物安全性评价[J]. 环境科学学报, 2007(12): 2038-2045.
- [28] 王李斌, 李婷, 何军, 等. 雷公藤生物碱制品对非靶标生物的毒性研究[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(6): 1070-1076.
- [29] 叶萱. 制剂对蜜蜂的毒性[J]. 世界农药, 2015, 37(6): 31-36; 45.
- [30] 韩志华, 周军英, 程燕, 等. 不同剂型二嗪磷制剂及原药对鸟类的毒性评价[J]. 农业环境科学学报, 2008(5): 2033-2038.

(下转第 52 页)

表 6 种衣剂对克氏原螯虾的急性毒性评价

农药制剂名称	回归方程	96 h-LC ₅₀ 值/(mg a.i.·L ⁻¹)	95%置信区间/(mg·L ⁻¹)	相关系数
全程	y=2.58 x -2.91	13.71	10.80~17.10	0.991
润苗	y=1.80 x -1.99	12.95	8.79~17.42	0.957

3 总结与展望

本研究评估了2种混配种衣剂对水稻种子的安全性、对恶苗病的防效、在水稻田及水稻植株中的残留情况和对非靶标生物克氏原螯虾的急性毒性风险。结果表明,全程和润苗对水稻种子生长均具有很好的安全性,对恶苗病具有较好的防效。结合各地多点试,润苗、全程最佳使用剂量分别应在200~400 g/100 kg种子、400~500 g/100 kg种子处理范围内。此条件下的润苗和全程对水稻发芽和生长有良好的保护作用,超出该剂量范围则可能抑制种子发芽。为避免药害情况发生,需严格控制药剂在实际生产中的使用剂量。此外,这2种种衣剂不会造成水稻和稻田环境的残留污染,二者对克氏原螯虾的急性毒性较低,在稻虾复合种养中可以推广应用。

种子包衣技术是实现作物良种标准化、管理轻型化、农业生产节支增收的重要途径,是我国现代高科技农业发展的重要组成部分。水稻是我国最主要的粮食作物之一,也是保障我国粮食出口经济的重要产品,加强水稻种衣剂的研发与推广是提高我国水稻种子科技含量和市场竞争力的重要举措。未来应加强水稻种衣剂向精品化、高效化、安全化方向发展,服务于水稻种子标准化,切实为现代化绿色农业发展做出贡献。

参考文献

[1] TADESSE G L, KASA T. High human exposure and measurable environmental impact of pesticides application on agriculture: a review article[J]. *Advances in Life Science and Technology*, 2017 (55): 13-22.
 [2] CARVALHO F P. Pesticides, environment, and food safety[J]. *Food*

and Energy Security, 2017, 6(2): 48-60.
 [3] BUNDSCHUH M, GOEDKOOOP W, KREUGER J. Evaluation of pesticide monitoring strategies in agricultural streams based on the toxic-unit concept-experiences from long-term measurements [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 484: 84-91.
 [4] BOYE K, LINDSTROM B, BOSTROM G, et al. Long-term data from the Swedish national environmental monitoring program of pesticides in surface waters[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2019,48(4): 1109-1119.
 [5] 李怡洁. 化肥、农药双减问题探析[J]. *南方农业*, 2019, 13(5): 174-175.
 [6] 钱忠龙. 水稻化肥、农药双减增效与农业面源污染防治[J]. *上海农业科技*, 2006(5): 78-80.
 [7] 李海龙, 方淑梅, 孔祥森, 等. 种衣剂的研究应用现状与发展方向 [J]. *贵州农业科学*, 2018, 46(9): 59-63.
 [8] 高云英, 谭成侠, 胡冬松, 等. 种衣剂及其发展概况[J]. *现代农药*, 2012,11(3): 7-10.
 [9] 肖晓, 王权, 张海清. 水稻种衣剂研究进展[J]. *作物研究*, 2008, 22 (增刊1): 405-408.
 [10] 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.
 [11] 蒋梦云, 巩文雯, 刘庆菊, 等. 辣椒及土壤中咯菌腈、精甲霜灵和溴虫酰胺的残留及消解动态研究[J]. *广东农业科学*, 2018, 45 (11): 60-67.
 [12] 贾丽, 何玲, 王李斌, 等. 啞菌酯在我国登记情况以及抗性研究现状[J]. *农药科学与管理*, 2014, 35(10): 19-22.
 [13] 杨玉柱, 焦必宁. 新型杀菌剂咯菌腈研究进展[J]. *现代农药*, 2007, 6(5): 35-39.
 [14] 刘煜财, 王义山, 郭冬梅, 等. 11%精甲霜灵·咯菌腈·啞菌酯悬浮种衣剂防治玉米丝黑穗病试验[J]. *吉林农业科学*, 2014, 39(3): 56-58.
 [15] 潘强, 王莹, 陈静, 等. 25%噻虫·咯·精甲悬浮种衣剂配方及其生物活性[J]. *农药*, 2017, 56(12): 882-886.

(责任编辑:高蕾)

(上接第 43 页)

[31] 宋世明, 陈兆杰, 吴秋榕, 等. 不同剂型硝磺草酮及其原药对斑马鱼的急性毒性评价[J]. *南方农业学报*, 2017, 48(8): 1518-1523.
 [32] CAROLINE C, MICHAEL S. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2006, 114(12): 1803-1806.
 [33] 姜锦林, 单正程, 程燕, 等. 常用农药助剂类产品对水生生物效应研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(4): 45-58.
 [34] 中华人民共和国农业部. NY/T 2882—2016 农药登记环境风险

评估指南[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
 [35] 豆敏详, 姚满, 吴志凤, 等. 苦参碱在土壤中的环境行为研究[J]. *农药学报*, 2017, 19(5): 576-582.
 [36] 马志卿, 豆敏详, 姚满, 等. 苦参碱的水解动态及其在自然水体中的降解特性[J]. *农药学报*, 2017, 19(3): 347-354.
 [37] 张宗俭, 张春华. 农药助剂研发进展及在农药减量增效行动中的作用[C]//中国植物保护学会. 绿色植保与乡村振兴——中国植物保护学会2018年学术年会论文集, 2018 333-337.

(责任编辑:高蕾)