

雷公藤生物碱制品对非靶标生物的毒性研究

王李斌^{1,3}, 李 婷^{1,2}, 何 军^{1,2}, 冯俊涛^{1,2}, 马志卿^{1,2*}, 张 兴^{1,2}

(1.西北农林科技大学无公害农药研究服务中心, 陕西 杨凌 712100; 2.西北农林科技大学植保资源与病虫害治理教育部重点实验室, 陕西 杨凌 712100; 3.陕西省咸阳市农产品质量安全中心, 陕西 咸阳 712000)

摘 要:安全性评价是新农药开发及应用的重要基础。参照国家环保总局和农业部农药检定所制定的《化学农药环境安全评价试验准则》,测定了 95%雷公藤总生物碱、1.0%雷公藤生物碱微乳剂、雷公藤乙醇浸膏和助剂系统对生态环境中非靶标生物的毒性。结果表明:95%雷公藤总生物碱对鹌鹑为高毒,对蜜蜂、家蚕为中毒,对鲤鱼、蚯蚓、蝌蚪均为低毒;1.0%雷公藤生物碱微乳剂对蝌蚪为高毒,对鹌鹑和家蚕为中毒,对鲤鱼、蜜蜂和蚯蚓均为低毒;雷公藤乙醇浸膏对鹌鹑为中毒,对蜜蜂、家蚕、鲤鱼、蚯蚓和蝌蚪均为低毒;助剂系统对供试生物均为低毒。由此可见,雷公藤生物碱制品对环境生物较为安全,但在桑园和水田附近慎用,并应注意对鸟类的保护。

关键词:雷公藤;雷公藤生物碱;非靶标生物;安全性评价

中图分类号:X820.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)06-1070-07

Toxicity of Alkaloid-based Products from *Tripterygium wilfordii* on Non-target Organisms

WANG Li-bin^{1,3}, LI Ting^{1,2}, HE Jun^{1,2}, FENG Jun-tao^{1,2}, MA Zhi-qing^{1,2*}, ZHANG Xing^{1,2}

(1.Research & Development Center of Biorational Pesticide/Shaanxi Research Center of Biopesticide Engineering & Technology, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2.Key Laboratory of Plant Protection Resources and Pest, Management Ministry of Education, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 3.The Safety Center of Agricultural Products of Xianyang City, Shaanxi Province, Xianyang 712000, China)

Abstract: Safety assessment is critically necessary for the development and application of new pesticides. Following the *Experimental Guide-line for Environmental Safety Evaluation of Chemical Pesticide*, we evaluated the toxicity of 95% total alkaloid, 1.0% alkaloid ME, ethanol extract from *Tripterygium wilfordii* and the adjuvant on non-target organisms including quail (*Coturnix chinensis*), bee (*Apis mellifera* L.), silkworm (*Bombyx mori*), fish (*Cyprinus carpio*), tadpole (*Rana limnocharis*) and earthworm (*Eisenia foelide*). The results indicated that the toxicity of 95% total alkaloid is low on fish, earthworm and tadpole, moderate on bee and silkworm, and high on quail. The toxicity of 1.0% *T. wilfordii* alkaloid ME is high on tadpole, moderately toxic on quail and silkworm, and low toxic on others. The toxicity of extract from *T. wilfordii* is low on bee, silkworm, fish, earthworm and tadpole. And is moderately toxic on quail. The toxicity of adjuvant is low on all non-target organisms tested. We conclude that the alkaloid-based products from *T. wilfordii* are generally safe to non-target animals; however, they should be applied cautiously in rice paddies and mulberry orchards.

Keywords: *Tripterygium wilfordii* Hook.; *T. wilfordii* total alkaloid; non-target organisms; safety assessment

雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook) 为卫矛科 (Celastraceae) 雷公藤属 (*Tripterygium*) 植物, 又名黄藤根、霹雳木、断肠草等, 广泛分布于我国长江流域以南, 它不仅是我国优良的中草药资源, 也是传统的植

物杀虫剂, 在民间很早即被用于防治害虫。20 世纪 30 年代我国学者就开始了雷公藤杀虫作用的研究。1935 年美国引种, 并对其杀虫活性及有效成分进行了探讨。雷公藤总生物碱是其主要杀虫活性成分, 其对粘虫 *Mythimna separata* (Walker)、菜青虫 *Pieris rapae* L.、小菜蛾 *Plutella xylostella* L.、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* Hübner、桃蚜 *Myzus persicae* (Sulzer)、山楂叶螨和家蝇 *Musca domestica* Linnaeus 等多种昆虫均具有较强的毒杀、拒食和麻痹作用, 可明显抑制棉铃

收稿日期: 2012-02-10

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(200903052)

作者简介: 王李斌(1983—), 男, 陕西咸阳人, 硕士研究生, 主要从事植物源农药对环境生物的毒性研究。

E-mail: wanglb21@163.com

* 通讯作者: 马志卿 E-mail: mazhiqing2000@126.com

虫生长发育和玉米象 *Sitophilus zeamais* 种群增值^[1-2]。近年来,西北农林科技大学无公害农药研究服务中心对雷公藤的杀虫作用进行了较为系统的研究^[3-4]。1.0%雷公藤生物碱乳油对小菜蛾具有良好的防效,其250和500倍稀释液喷施7d后防治效果分别达82.93%和79.58%;以40 mg·L⁻¹和20 mg·L⁻¹两种浓度喷施7d后,防治效果可达82.71%和80.30%,均与0.9%阿维菌素乳油3000倍稀释液的药效相当^[5]。而1.0%雷公藤生物碱微乳剂在192 mL·667 m⁻²的用量下,药后7d对菜青虫的防效可达81.48%,与4.5%高效氯氰菊酯微乳剂的防效相当^[6]。可见,该微乳剂有较强的应用前景。

安全性评价是新农药开发与应用中的重要环节,不仅为新农药的登记提供技术资料,更为其科学合理使用提供理论指导。为加快1.0%雷公藤生物碱微乳剂的登记,并将其推向市场,有必要对其进行安全性评价。故本研究参照《化学农药环境安全性评价试验准则》(以下简称“准则”)及国家农药检定所对植物源农药登记新要求,系统的测定了95%雷公藤总生物碱、1.0%雷公藤生物碱微乳剂、雷公藤乙醇浸膏及助剂系统对环境生物的毒性。

1 材料和方法

1.1 试验材料

95%雷公藤总生物碱从雷公藤根皮乙醇浸膏中提取获得;雷公藤生物碱乙醇浸膏:由雷公藤根皮乙醇提取;1.0%雷公藤生物碱微乳剂由雷公藤生物碱乙醇浸膏、溶剂和助剂按照一定比例配制而成;助剂为1.0%雷公藤生物碱微乳剂中除雷公藤生物碱乙醇浸膏之外的溶剂和助剂。以上4种供试物质均由陕西杨凌西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供。

鹌鹑:美国红唇与朝鲜龙城的F1代,30日龄鹌鹑(*Coturnix chinensis*),购于陕西兴平。选用同批大小均匀、雌雄各半的鹌鹑,试验前在室温25℃±2℃,自然光照条件下驯养7d。

蜜蜂:意大利蜂(*Apis mellifera* L.)成年工蜂,购于陕西杨凌。

家蚕:2~5龄家蚕(*Bombyx mori*),购于西北农林科技大学蚕桑研究所。

蚯蚓:赤子爱胜蚯蚓(*Eisenia foelide*),饲养3个月左右带有明显生殖环带,体重300~600 mg·只⁻¹,购于陕西杨凌。

蝌蚪:泽蛙(*Rana limnocharis*)幼体,孵化10d左

右,平均长度约15 mm。供试前在室内预养3d。

鲤鱼:体长3~4 cm 幼小鲤鱼(*Cyprinus carpio*),购于陕西西安。鱼苗健壮无病,大小一致,试验前驯养7d,每日喂食1~2次,曝气充氧,光照12 h左右,及时清除粪便及食物残渣。试验前1d至试验结束停止喂食,保持其他条件不变。

1.2 试验方法

1.2.1 蜜蜂毒性试验

(1)摄入毒性:根据预试验结果将供试药剂按一定浓度梯度配制成5~7个浓度,与蜂蜜以2:1(V/V)混匀制成药蜜,用0.3 g脱脂棉浸渍药蜜,置于三角瓶的纱网上,通过网眼供蜜蜂摄食;每处理蜜蜂20只,3个重复,并设空白和溶剂对照,观察并记录处理24 h后死亡数,对试验数据进行统计,求出LC₅₀值及95%置信限^[7]。

(2)触杀毒性:用微量注射器点滴1.0 μL供试药液于蜜蜂的前胸背板,待蜂身晾干后转入试验笼中,用脱脂棉浸泡适量蜜和水饲喂,正式试验在预试验浓度范围内按一定浓度梯度设置5~7个浓度组,每笼20只蜜蜂,同时设立空白对照组及溶剂对照组,每处理重复3次,观察24 h受试蜜蜂有无中毒症状及死亡现象,记录死亡数,对试验数据进行统计,计算LD₅₀值及95%置信限^[8]。

1.2.2 家蚕毒性试验

(1)体触法:供试药剂按一定浓度梯度配制5~7个处理组,每处理组取2 mL药液滴加在培养皿内的滤纸(直径11 cm)上,扩散均匀后,每皿接入10头2龄起蚕,待任意爬行30 min后喂以新鲜桑叶,每处理重复3次,并设空白对照。观察并记录24 h和48 h内试虫中毒死亡情况,求出LC₅₀值。

(2)食下毒叶法:在直径11 cm的玻璃培养皿内饲养2龄起蚕,供试药剂按一定浓度梯度配制5~7个处理组,用不同浓度的药液定量浸渍桑叶,以5 mL药液浸渍5 g桑叶,凉干供蚕食用,每组20头蚕,均设3个重复,并设空白和溶剂对照。试验在25℃±2℃下进行,记录24 h的死亡率。试验结束后对数据进行数理统计,计算半致死浓度LC₅₀值及95%置信限^[9]。

1.2.3 鹌鹑毒性试验

经口一次性染毒法:供试鹌鹑以经口灌注法一次性给药1.0 mL·鹌鹑⁻¹,连续7d观察受试鹌鹑的死亡情况与中毒症状。正式试验在预试验剂量范围内按一定梯度设置5~7个剂量组,每组10只鹌鹑(雌雄各半),并设空白对照组。试验在25℃±2℃与正常的饲

养条件下进行,记录试验鹌鹑的死亡数,对试验数据进行数理统计,求出 LD₅₀ 值及 95%置信限^[10]。

1.2.4 蚯蚓毒性试验

土壤浸泡法:正式试验在预试验范围内按浓度梯度设置 5~7 处理组,并设一组不加农药的空白对照,每处理重复 3 次。在标本瓶中放 500 g 人工配制的标准土壤(表 1),加入农药溶液后充分拌匀,加适量蒸馏水,调节土壤水分含量达 20%。每处理放入蚯蚓 10 条,用纱布扎好瓶口,将标本瓶置于 20℃±1℃、湿度 80%~85%的培养箱中。于第 7 d 和第 14 d 倒出瓶内土壤,观察记录蚯蚓的中毒症状和死亡数,及时清除死蚯蚓。根据蚯蚓 7 d 和 14 d 的死亡率,求出农药对蚯蚓的毒性 LC₅₀ 值及 95%置信限(mg·kg⁻¹土壤)^[11]。

表 1 标准土壤的组成及配比

Table 1 Composition and rate of standard soil

项目	石英砂 SiO ₂	膨润土 Bentonite	草炭 Peat	马粪 Horse dung	碳酸钙 CaCO ₃
成分含量/%	83	5	10	1	1

1.2.5 蝌蚪毒性试验

半静态法:供试药剂在预试验范围内按一定浓度级差配制 5~7 个处理组,每缸分别配制不同浓度的药液各 5 L,充分搅拌均匀,每处理重复 3 次,并设空白对照。每个试验缸内投放蝌蚪 20 尾,调节试液温度在 20℃左右。试验历时 48 h,隔 24 h 更换 1 次药液,试验过程中记录 24 h 与 48 h 蝌蚪的中毒情况和死亡数,及时清除死蝌蚪。求出 LC₅₀ 值与 95%的置信限^[12]。

1.2.6 对鱼的毒性试验

半静态法:设置 5~7 个浓度梯度组投加至鱼缸中,并设清水和溶剂对照组,每组重复 3 次。每缸放入鱼 10 尾,试验开始后 6 h 内随时观察记录受试鱼的中毒及死亡情况,其后于 24、48、72、96 h 观察记录结果并及时清除死鱼,求出 LC₅₀ 值和 95%置信限^[13-14]。

2 结果与分析

2.1 雷公藤生物碱制品对蜜蜂的毒性

分别采用点滴法和胃毒法测定了雷公藤生物碱制品对蜜蜂的毒性。触杀毒性测定中,在 15.0 μg 每蜂的剂量下,24 h 后蜜蜂死亡率为 0。根据农药对蜜蜂的触杀等级划分判断,雷公藤生物碱制品无触杀毒性。但其对蜜蜂具有一定的胃毒毒性,结果见表 2。依据准则,95%雷公藤总生物碱对蜜蜂为中毒,其余 3 种供试样品对蜜蜂为低毒。

2.2 雷公藤生物碱制品对家蚕的毒性

触杀毒性试验表明,分别以 5 000 mg·L⁻¹ 95%雷公藤总生物碱、1.0%雷公藤生物碱微乳剂和雷公藤乙醇浸膏处理家蚕,24 h 和 48 h 均无死亡现象,故认为雷公藤生物碱制品对家蚕无明显触杀毒性。

胃毒试验结果(表 3)表明,95%雷公藤总生物碱、1.0%微乳剂、雷公藤乙醇浸膏和助剂对家蚕的 LC₅₀ 分别为 129.59、152.87、1 217.80 mg·L⁻¹ 和大于 5 000 mg·L⁻¹;根据毒性等级划分准则,95%雷公藤总生物碱和微乳剂对家蚕的毒性为中毒,雷公藤乙醇浸膏和助剂为低毒。

2.3 雷公藤生物碱制品对鹌鹑的毒性

2.3.1 中毒症状

95%雷公藤总生物碱:染毒后,高浓度组鹌鹑重者被击倒、打嗝、肌肉抽搐,死亡前突然剧烈振翅,头向后仰,腿向后蹬,全身伸展;轻者羽毛蓬松,精神不振,头下垂,食欲废绝。低浓度组鹌鹑无剧烈反应,行走摇摆不稳,羽毛蓬松,头下垂,逐渐恢复正常,拉红色稀粪。溶剂对照组无明显反应。

1.0%雷公藤生物碱微乳剂:染毒后,高浓度组鹌鹑被击倒、抽搐、打嗝、肌肉震颤,死亡前突然剧烈振翅,头向后仰,腿向后蹬,全身伸展;轻者击倒后可逐渐苏醒,羽毛蓬松,精神不振,头下垂。低浓度组鹌鹑无剧烈反应,2 h 后逐渐恢复正常,5 h 后开始觅食。助

表 2 雷公藤生物碱制品对蜜蜂的胃毒毒性(24 h)

Table 2 Toxicity of *T. wilfordii* alkaloid-based products on *Apis mellifera* L.(24 h)

样品 Samples	回归方程 Y=aX+b	可决系数 R ²	致死中浓度 LC ₅₀ / mg·L ⁻¹	95%置信限 95%CL/ mg·L ⁻¹
95%雷公藤总生物碱 95% Total alkaloid	Y=2.45X+0.22	0.997	89.03	83.96~94.41
1.0%雷公藤生物碱微乳剂 1.0% <i>T. wilfordii</i> alkaloid ME	Y=1.40X+1.54	0.992	301.75	235.99~385.83
雷公藤乙醇浸膏 <i>T. wilfordii</i> extract	—	—	>5 000	—
助剂系统 Adjuvants system	—	—	>5 000	—

注:“—”表示供试样品达到一定浓度时死亡率仍为 0,可不再提高样品浓度求出毒力曲线。下表同。
Notes: “—”in the table indicate that when the mortality is zero with a certain concentration, it is no need to improve the concentration to get a regression equation .The same with follow.

表 3 雷公藤生物碱制品对家蚕的胃毒毒性(24 h)

Table 3 Stomach toxicity of *T. wilfordii* alkaloid-based products on *Bombyx mori*(24 h)

样品 Samples	回归方程 $Y=aX+b$	可决系数 R^2	致死中浓度 $LC_{50}/$ $mg \cdot L^{-1}$	95%置信限 95%CL/ $mg \cdot L^{-1}$
95%雷公藤总生物碱 95% Total alkaloid	$Y=1.67X+1.46$	0.996	129.59	117.77~142.60
1.0%雷公藤生物碱微乳剂 1.0% <i>T. wilfordii</i> alkaloid ME	$Y=2.33X+0.09$	0.998	152.87	143.17~163.23
雷公藤乙醇浸膏 <i>T. wilfordii</i> extract	$Y=0.88X+2.28$	0.920	1 217.80	1 129.28~1 464.38
助剂系统 Adjuvants system	—	—	>5 000	—

剂组鹌鹑个别表现出精神不振,2 h 后逐渐恢复正常。清水对照组无异常反应。

2.3.2 急性毒性测定结果

对鹌鹑的经口一次性染毒测定,结果(表 4)表明:雷公藤生物碱制品对鹌鹑的毒性差异较大,其中雷公藤总生物碱对鸟类为高毒,微乳剂和雷公藤乙醇浸膏为中毒;对于助剂系统,在施药量为 1 221.00 $mg \cdot kg^{-1}$ 时死亡率仍为 0,根据试验准则可不再提高浓度,表明对鹌鹑为低毒。

2.4 雷公藤生物碱制品对蚯蚓的毒性

雷公藤生物碱制品对蚯蚓的毒性测定结果(表 5)表明:分别以 1 000 $mg \cdot L^{-1}$ 95%雷公藤总生物碱、1.0%雷公藤生物碱微乳剂、雷公藤乙醇浸膏和助剂系统处理蚯蚓,于第 7 d 和第 14 d 检查各处理,蚯蚓均无中毒症状和死亡现象,故认为雷公藤生物碱制品对蚯蚓的毒性远大于 1 000 $mg \cdot L^{-1}$ 。根据农药对蚯蚓的毒性等级划分标准,供试样品均为低毒。

2.5 雷公藤生物碱制品对蝌蚪的毒性

半静态法测定生物碱制品对蝌蚪的毒性结果(表

6)表明,1.0%雷公藤生物碱微乳剂对蝌蚪有较高的毒性。而以 100 $mg \cdot L^{-1}$ 95%雷公藤总生物碱处理蝌蚪,24 h 和 48 h 均无死亡现象,故认为 95%雷公藤总生物碱对蝌蚪的 LC_{50} 远大于 100 $mg \cdot L^{-1}$ 。根据农药对蛙类的毒性等级划分标准,1.0%雷公藤生物碱微乳剂属于高毒,95%雷公藤总生物碱、雷公藤乙醇浸膏和助剂对蝌蚪均为低毒。

2.6 雷公藤生物碱制品对鲤鱼的毒性

采用半静态法测定了雷公藤生物碱制品对鲤鱼的毒性,根据准则方法统计分析了 24、48、72、96 h 的死亡率,结果(表 7)表明:各供试药剂对鲤鱼的毒性有一定差异,但差异不大,且均为低毒。

3 讨论

安全性评价是新农药登记中必须提供的资料。目前,世界各国对化学农药均建立有严格的评价体系,对植物源农药的规定则不尽相同,如美国环保局(EPA)对植物提取物如印楝素等采取较为宽松的政策,对其采取分阶段管理体系^[15-16],而欧盟国家采取国

表 4 雷公藤生物碱制品对鹌鹑的急性经口毒性(7 d)

Table 4 Acute toxicity of *T. wilfordii* alkaloid-based products on *Coturnix chinensis*(7 d)

样品 Samples	回归方程 $Y=aX+b$	可决系数 R^2	致死中浓度 $LC_{50}/$ $mg \cdot L^{-1}$	95%置信限 95%CL/ $mg \cdot L^{-1}$
95%雷公藤总生物碱 95% Total alkaloid	$Y=1.89X+2.27$	0.981	27.86	21.84~35.54
1.0%雷公藤生物碱微乳剂 1.0% <i>T. wilfordii</i> alkaloid ME	$Y=4.76X+3.20$	0.997	52.74	47.77~58.23
雷公藤乙醇浸膏 <i>T. wilfordii</i> extract	$Y=3.81X-4.03$	0.976	232.88	193.56~280.20
助剂系统 Adjuvants system	—	—	>1 000	—

表 5 雷公藤生物碱制品对蚯蚓的毒性

Table 5 Toxicity of *T. wilfordii* alkaloid-based products on *Eisenia fetida*

样品 Samples	处理浓度 Concentration / $mg \cdot L^{-1}$	死亡率 Mortality		理论致死中浓度 Theoretic $LC_{50}/mg \cdot L^{-1}$
		7 d/%	14 d/%	
95%雷公藤总生物碱 95% Total alkaloid	1 000	0	0	>1 000
1.0%雷公藤生物碱微乳剂 1.0% <i>T. wilfordii</i> alkaloid ME	1 000	0	0	>1 000
雷公藤乙醇浸膏 <i>T. wilfordii</i> extract	1 000	0	0	>1 000
助剂系统 Adjuvants system	1 000	0	0	>1 000

表 6 雷公藤生物碱制品对蝌蚪的毒性(48 h)

Table 6 Toxicity of *T. wilfordii* alkaloid-based products on *Rana limnochris*(48 h)

样品 Samples	时间/h Treating time	回归方程 $Y=aX+b$	可决系数 R^2	致死中浓度 $LC_{50}/mg\cdot L^{-1}$	95%置信限 95%CL/ $mg\cdot L^{-1}$
95%雷公藤总生物碱	24	—	—	>100	—
95% Total alkaloid	48	—	—	>100	—
1.0%雷公藤生物碱微乳剂	24	$Y=18.21X+7.60$	0.993	0.72	0.71~0.73
1.0% <i>T. wilfordii</i> alkaloid ME	48	$Y=20.80X+8.33$	0.997	0.69	0.69~0.70
雷公藤乙醇浸膏	24	$Y=7.40X-15.07$	0.962	514.10	466.51~566.54
<i>T. wilfordii</i> extract	48	$Y=7.16X-13.45$	0.999	376.61	324.18~437.51
助剂系统	24	$Y=7.79X-14.54$	0.999	323.49	284.63~367.66
Adjuvants system	48	$Y=5.30X-7.83$	0.962	263.31	232.82~297.79

表 7 雷公藤生物碱制品对鲤鱼的毒性

Table 7 Toxicity of *T. wilfordii* alkaloid-based products t on *Cyprinus carpio*

样品 Samples	时间/hTreating time	回归方程 $Y=aX+b$	可决系数 R^2	致死中浓度 $LC_{50}/mg\cdot L^{-1}$	95%置信限 95%CL/ $mg\cdot L^{-1}$
95%雷公藤总生物碱	24	$Y=9.36X-11.13$	0.976	378.47	329.70~403.50
95% Total alkaloid	48	$Y=11.54X-15.38$	0.984	333.86	300.90~364.95
	72	$Y=13.49X-21.86$	0.988	286.32	269.86~299.62
	96	$Y=7.34X-13.92$	0.991	254.19	234.98~273.95
	24	$Y=10.76X-14.63$	0.980	283.56	259.89~304.70
1.0%雷公藤生物碱微乳剂	48	$Y=8.06X-7.52$	0.988	261.79	246.86~279.96
	72	$Y=14.48X-18.65$	0.991	190.86	166.80~211.62
	96	$Y=18.61X-20.36$	0.996	166.44	130.99~179.82
	24	$Y=7.20X-11.48$	0.977	194.85	166.76~227.68
<i>T. wilfordii</i> extract	48	$Y=6.48X-9.19$	0.981	154.74	131.04~182.74
	72	$Y=4.93X-5.20$	0.993	117.30	94.04~146.33
	96	$Y=5.69X-6.10$	0.989	89.60	71.60~112.13
	24	$Y=8.92X-19.27$	0.969	527.35	405.75~685.40
助剂系统	48	$Y=12.73X-29.11$	0.982	479.31	425.88~539.44
	72	$Y=12.05X-12.59$	0.989	419.61	387.02~454.94
	96	$Y=15.49X-34.75$	0.988	368.88	344.42~395.08
	24				

际经济合作与发展组织(OECD)颁布的方法,对植物提取物仍按化学农药进行登记管理^[17]。在我国,以前将植物源农药与化学农药同等对待,在进行植物源农药的安全性评价时,要求测定制剂及原药单体成分对非靶标生物的毒性,但由于植物源农药特点之一是多种成分共同作用^[18-19],仅测定其中一种成分的毒性往往不能反映原药整体的真实毒性。因此,近两年来我国农药检定所修订了《化学农药环境安全性评价试验准则》,提出以母药代替活性成分单体进行安全性评价,母药可以是粗提物,也可以是初步分离制备的一类物质,并提出植物源农药属于特殊农药登记,其环境影响资料和化学农药相同,但可根据农药的特性,适当减免部分试验。然而,由于并未建立独立的“植物源农药环境安全性评价准则”及相关方法,在进行植物源农药安全性评价时仍参照《化学农药环境安全性

评价试验准则》的方法进行。

生物碱是雷公藤 (*Tripterygium wilfordli* Hook)中的主要杀虫活性成分,雷公藤乙醇浸膏(富含雷公藤生物总碱)均可作为雷公藤杀虫剂的母药,但基于成本考虑,西北农林科技大学无公害农药研究服务中心以雷公藤乙醇浸膏为母药,开发出了 1.0%雷公藤生物碱微乳剂。为评价该植物源杀虫剂产品的环境安全性,并比较雷公藤生物总碱和雷公藤乙醇浸膏这两种母药是否存在安全性差异,本研究参照国家环保总局和农业部农药检定所制定的《化学农药环境安全评价试验准则》,测定了 95%雷公藤总生物碱、1.0%雷公藤生物碱微乳剂、雷公藤乙醇浸膏和助剂系统对生态环境中非靶标生物的毒性。其结果显示出,1.0%雷公藤生物碱微乳剂对蝌蚪为高毒,对鹌鹑和家蚕为中毒,对鲤鱼、蜜蜂和蚯蚓均为低毒;95%雷公藤总生物

碱对鹌鹑为高毒,对蜜蜂、家蚕为中毒,对鲤鱼、蚯蚓、蝌蚪均为低毒;而雷公藤乙醇浸膏对鹌鹑为中毒,对蜜蜂、家蚕、鲤鱼、蚯蚓和蝌蚪均为低毒。可见,雷公藤乙醇浸膏和95%雷公藤总生物碱对非靶标生物的毒性具有一致性,但雷公藤乙醇浸膏较95%雷公藤总生物碱更为安全,且其加工成本低,故可将雷公藤乙醇浸膏作为雷公藤杀虫剂的母药。

1.0%雷公藤生物碱微乳剂和其母药对非靶标生物的安全性存在差异,可能与制剂中的助剂系统有关。农药制剂中加入的各种助剂往往具有提高药效或改变毒性的作用,这种作用与助剂的理化性质有关。如张亚妮等^[20]研究表明,0.5%川楝素乳油对家蚕、蜜蜂、蚯蚓和瓢虫等为低毒,仅对鹌鹑中毒,蝌蚪高毒,而78%川楝素原粉对鹌鹑、家蚕、蜜蜂、蚯蚓、瓢虫和蝌蚪等非靶标生物均为低毒。再如廖永刚等^[21]研究表明,95%鬼臼毒素对鲫鱼96 h的 LC_{50} 值是 $161.64 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,但鬼臼毒素乳油对鲫鱼96 h的 LC_{50} 值是 $4.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。1.0%雷公藤生物碱微乳剂中加入了乙二醇、农乳500等助剂,这些成分有利于雷公藤生物碱在生物体表的展布及穿透,而加速了非靶标生物对供试药剂的吸收或代谢,致使其对蝌蚪、鹌鹑家蚕的毒性高于雷公藤乙醇浸膏和95%雷公藤总生物碱。

4 结论

国内外对雷公藤的杀虫作用研究起源很早,也已经分离得到了5种具杀虫活性的生物碱,能较好地满足了目前植物源农药开发的要求。在此基础上开发研制的微乳剂有良好的应用前景,在环境中对非靶标生物较为安全。

(1)95%雷公藤总生物碱对鹌鹑为高毒,对蜜蜂、家蚕为中毒,对鲤鱼、蚯蚓、蝌蚪均为低毒。

(2)1.0%雷公藤生物碱微乳剂对蝌蚪为高毒,对鹌鹑和家蚕为中毒,对鲤鱼、蜜蜂和蚯蚓均为低毒。

(3)雷公藤乙醇浸膏对鹌鹑为中毒,对蜜蜂、家蚕、鲤鱼、蚯蚓和蝌蚪均为低毒。

(4)助剂对供试非靶标生物均为低毒。

(5)雷公藤生物碱制品对环境生物较为安全,但在桑园和水田附近慎用,应用中应注意对鸟类的保护。

参考文献:

- [1] 周琳,冯俊涛,张锦恬,等.雷公藤总生物碱对几种昆虫的生物活性[J].植物保护,2007,33(6):60-64.
ZHOU Lin, FENG Jun-tao, ZHANG Jin-tian, et al. Bioactivity of the total alkaloid from *Tripterygium wilfordii* Hook against several important pests[J]. *Plant Protection*, 2007, 33(6):60-64.
- [2] 周琳,张兴.雷公藤的杀虫作用研究与应用[J].昆虫知识,2008,45(6):852-856.
ZHOU Lin, ZHANG Xing. Insecticidal activity of *Tripterygium wilfordii* and its applications[J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2008, 45(6):852-856.
- [3] 罗都强,张兴,冯俊涛.杀虫植物雷公藤研究进展[J].西北农林科技大学学报,2000,28(3):84-89.
LUO Du-qiang, ZHANG Xing, FENG Jun-tao. Research development of an insecticidal plant *Tripterygium wilfordii* Hook[J]. *The Journal of Northwest Agricultural University*, 2000, 28(3):84-89.
- [4] 罗都强.雷公藤有效成分和杀虫活性及应用研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2002.
LUO Du-qiang. Studies on the active components, insecticidal activities and application of *Tripterygium wilfordii* [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2002.
- [5] 周琳,马志卿,冯俊涛,等.雷公藤生物碱制品对小菜蛾和菜青虫的控制效果[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2006,34(12):169-173.
ZHOU Lin, MA Zhi-qing, FENG Jun-tao, et al. Control efficacy of alkaloid products from *Tripterygium wilfordii* Hook against *Plutella xylostella* (L.) and *Pieris rapae* [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2006, 34(12):169-173.
- [6] 李修伟.摇蚊GSTs特性分析及雷公藤杀虫活性应用基础研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2009.
LI Xiu-wei. Characterization of glutathione s-transferase genes from the aquatic medge *chironomus tentans* and insecticidal activity of the total alkaloid from *Tripterygium wilfordii* Hook [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2009.
- [7] 卜元卿,单正军,周军英,等.农药对蜜蜂生物毒性及安全性评价研究回顾[J].农药,2009,48(6):399-426.
PU Yuan-qing, SHAN Zheng-jun, ZHOU Jun-ying, et al. Research review on biological toxicity and safety assessment of pesticides to honey-bee[J]. *Agrochemicals*, 2009, 48(6):399-426.
- [8] 陈锐,张爱云,龚瑞忠,等.化学农药对生态环境安全评价研究:Ⅶ.化学农药对蜜蜂的毒性与评价[J].农村生态环境,1987(1):12-15.
CHEN Rui, ZHANG Ai-yun, GONG Rui-zhong, et al. Toxicity experiment of pesticides on honeybees[J]. *Rural Eco-Environment*, 1987(1):12-15.
- [9] 陈锐,张爱云,蔡道基,等.化学农药对生态环境安全评价研究:Ⅳ.农药对家蚕毒性试验方法[J].农村生态环境,1986,2(3):12-15.
CHEN Rui, ZHANG Ai-yun, CAI Dao-ji, et al. Toxicity experiment of pesticides on silkworm[J]. *Rural Eco-Environment*, 1986, 2(3):12-15.
- [10] 杨佩芝,蔡新明,蔡道基.化学农药对生态环境安全评价研究:Ⅲ.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.
YANG Pei-zhi, CAI Xing-ming, CAI Dao-ji. Toxicity of four chemical pesticides on birds and their assessment[J]. *Rural Eco-Environment*,

- 1986, 2(3):8-11, 37.
- [11] 张壬午, 李治祥, 白清云, 等. 化学农药对生态环境安全评价研究: II. 化学农药对蚯蚓的毒性与评价[J]. 农村生态环境, 1986, 2(2): 14-18.
- ZHANG Ren-wu, LI Zhi-xiang, BAI Qing-yun, et al. Toxicity experiment of pesticides on earthworms [J]. *Rural Eco-Environment*, 1986, 2(2):14-18.
- [12] 中华人民共和国农业部. 化学农药环境安全评价试验准则[S]. The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Experimental guideline for environmental safety evaluation of chemical pesticide[S].
- [13] 赵春青, 钱 坤, 李学锋, 等. 不同类型农药对斑马鱼的急性毒性与安全评价[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(34):15027-15028.
- ZHAO Chun-qing, QIAN Kun, LI Xue-feng, et al. Acute toxicity of different kinds of pesticides to brachydanio rerio and their safety evaluation[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(34):15027-15028.
- [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.
- ZHAO Yu-ding, XU Dun-ming, LIU Xian-jin, et al. Toxicity of ten pesticides to brachydanio rerio and safety evaluation[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2007, 35(22):6801-6802.
- [15] U S Environmental Protection Agency. Risk assessment forum, framework for ecological risk assessment[R]. 1992, EPA/630/R-92/001.
- [16] U S Environmental Protection Agency. Risk assessment forum, guidelines for ecological risk assessment[R]. 1998-05-14, EPA63(93).
- [17] OECD Environment. Health and Safety Publications Series on Pesticide (No. 25). The assessment of persistency and bioaccumulation in the pesticide registration frameworks within the OECD region [R]. 2005-01-31. ENV/JM/MONO.
- [18] 张 兴, 张民力, 赵善欢. 楝属川楝素含量与生物活性的关系[J]. 华南农业大学学报, 1988, 9(4):21-30.
- ZHANG Xing, ZHANG Min-li, ZHAO Shan-huan. The relationship between the bioactivity and the content of toosendanin in chinaberry[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 1988, 9(4):21-30.
- [19] 张 兴. 几种川楝素提制品对菜青虫的生物活性[J]. 植物保护学报, 1989, 16(3):205-210.
- ZHANG Xing. Effects of some toosendanin produce to biology activity rapae[J]. *Plant Protection*, 1989, 16(3):205-210.
- [20] 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, 27(12):2038-2045.
- ZHANG Ya-ni, MA Zhi-qing, WANG Hai-peng, et al. Evaluation of the toxicity of botanical pesticide toosendanin to non-target organisms [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27(12):2038-2045.
- [21] 廖永刚, 廖云琼. 植物源天然产物对鱼毒性与安全性评价 [J]. 现代农业科技, 2007(7):111-112.
- LIAO Yong-gang, LIAO Yun-qiong. The toxicity and safety assessment of botanical natural product on fish[J]. *Modern Agricultural Sciences and Technology*, 2007(7):111-112.