

· 研究论文 ·

DOI: 10.16801/j.issn.1008-7303.2018.0012

## 4 种苦参碱制品对非靶标生物的毒性评价

豆敏详<sup>1</sup>, 史晓玲<sup>1</sup>, 马志卿<sup>\*1,2</sup>, 张 兴<sup>1,2</sup>, 吴志凤<sup>3</sup>

(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. 陕西省生物农药工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100; 3. 农业部 农药检定所, 北京 100125)

**摘 要:** 非靶标生物毒性评价是新农药开发应用的重要基础工作。为推进植物源农药苦参碱的科学合理使用, 本研究评价并比较了苦参碱、苦参总生物碱、苦参乙醇浸膏和 0.3% 苦参碱水剂对生态环境中非靶标生物(鹤鹑、家蚕、蜜蜂、蚯蚓、蝌蚪、斑马鱼)的毒性及农作物(豇豆)对其的敏感性。结果表明: 苦参碱、苦参总生物碱、苦参乙醇浸膏和 0.3% 苦参碱水剂对鹤鹑、家蚕、蜜蜂、蚯蚓、蝌蚪和斑马鱼的急性毒性均为低毒, 对豇豆属于低风险性, 且 0.3% 苦参碱水剂对家蚕无慢性毒性; 但不同苦参碱制品对同种非靶标生物的毒性存在较大差异, 苦参碱、苦参总生物碱、苦参乙醇浸膏和 0.3% 苦参碱水剂对鹤鹑的 7 d-LD<sub>50</sub> 值(均为有效成分, 下同)分别为 512、504、>1 000 和 >3 000 mg/kg<sub>鹤鹑</sub>; 对家蚕的 96 h-LC<sub>50</sub> 值分别为 >3 000、1 300、>5 000 和 821 mg/L; 对蜜蜂的 48 h-LC<sub>50</sub> 值分别为 1 145、1 361、>3 000 和 337 mg/L; 对蚯蚓的 14 d-LC<sub>50</sub> 值分别为 549、428、564 和 >1 000 mg/kg<sub>土壤</sub>; 对蝌蚪的 48 h-LC<sub>50</sub> 值分别为 >100、>100、263 和 15 mg/L; 对斑马鱼的 96 h-LC<sub>50</sub> 分别为 85、65、193 和 20 mg/L; 其中苦参乙醇浸膏的毒性最低。可见, 苦参碱制品对环境生物较为安全, 具有良好的生态效益。

**关键词:** 苦参碱; 非靶标生物; 植物源农药; 毒性; 安全性评价

中图分类号: X592; S481.8; TQ450.26 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2018)01-0049-09

## Toxicity evaluation of 4 matrine-based products on non-target organisms

DOU Minxiang<sup>1</sup>, SHI Xiaoling<sup>1</sup>, MA Zhiqing<sup>\*1,2</sup>, ZHANG Xing<sup>1,2</sup>, WU Zhifeng<sup>3</sup>

(1. Research & Development Center of Biorational Pesticide, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China;

2. Biopesticide Technology & Engineering Center of Shaanxi Province, Yangling 712100, Shaanxi Province, China;

3. Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, Beijing 100125, China)

**Abstract:** Environmental safety assessment of non-target organisms is essential for the development and application of new pesticides. In order to guide the rational use of matrine-based botanical pesticide products, the toxicities of 4 matrine-based products (matrine, total alkaloid, matrine extract and 0.3% matrine AS) on 6 kinds of non-target organism and the effect of succeeding crop (cowpea) were investigated and compared. The results indicated that the acute toxicities of matrine, total alkaloid, matrine extract and 0.3% matrine AS were low for quail, silkworm, bee, earthworm, tadpole and zebra fish. And these products were also low risk to cowpea. 0.3% Matrine AS has no chronic toxicity to the silkworm. But there were significant differences among toxicities of different products on the same

收稿日期: 2017-09-26; 录用日期: 2018-01-03.

基金项目: 绿色杀菌抗病毒剂及害虫生物防治剂创制开发 (2014BAD23B01).

作者简介: 豆敏详, 男, 硕士研究生, E-mail: doumin0401@sina.com; \*马志卿, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 教授, 主要从事农药毒理学研究, E-mail: mazhiqing2000@126.com

species. The 7 d-LD<sub>50</sub> value of matrine, total alkaloid, mtrine extract and 0.3% matrine AS were 512, 504, >1 000 and >3 000 mg a.i./kg<sub>quail</sub> on quail, respectively; >3 000, 1 300, >5 000 and 821 mg a.i./L on silkworm (96 h-LC<sub>50</sub>), respectively; 1 145, 1 361, >3 000 and 337 mg a.i./L on bee(48 h-LC<sub>50</sub>), respectively; 549, 428, 564 and >1 000 mg a.i./kg<sub>soil</sub> on earthworm(14 d-LC<sub>50</sub>), respectively; >100, >100, 263 and 15 mg a.i./L on tadpole(48 h-LC<sub>50</sub>), respectively; and 85, 65, 193 and 20 mg a.i./L on zebra fish(96 h-LC<sub>50</sub>), respectively. Among 4 products, mtrine extract had the lowest toxicity. Thus, matrine-based products are safe to non-target organisms, and will exhibit good ecological benefits in field application.

**Keywords:** matrine; non-target organisms; botanical pesticide; toxicity; safety evaluation

以苦参碱为有效成分的农药产品已广泛用于水果<sup>[1]</sup>、蔬菜<sup>[2]</sup>、茶树<sup>[2-3]</sup>和中药材<sup>[4]</sup>等作物及林业<sup>[5]</sup>上的多种病虫害的防治,如粉虱<sup>[6]</sup>、害螨<sup>[7]</sup>、蚜虫<sup>[8]</sup>、棉铃虫<sup>[8]</sup>、苹果炭疽病、苹果树腐烂病和葡萄霜霉病等<sup>[9]</sup>,且对作物生长具有一定的促进作用<sup>[10-11]</sup>,是中国最具代表性的植物源农药品种<sup>[12]</sup>。据中国农药信息网记载,截止2017年8月,已有105种含苦参碱成分的农药产品获得登记,位居中国植物源农药之首<sup>[13]</sup>。

然而,目前对苦参碱类农药产品的环境安全性研究尚未见系统性的公开报道,已有报道中的受试生物仅限于部分非靶标生物和环境行为研究,或仅评价了苦参碱单一化合物及制剂的安全性,如研究表明:苦参碱在小白菜和黄瓜上易降解<sup>[14-15]</sup>,在自然水体中易降解<sup>[16]</sup>,在土壤中不易残留;0.36%苦参碱水剂对蜜蜂、斑马鱼和家蚕均为低毒<sup>[17]</sup>;0.3%苦参碱水剂对六斑月瓢虫的安全性较高<sup>[18]</sup>。截至目前,尚未见有关苦参碱制品(母药和制剂)对非靶标生物毒性的系统评价。安全性评价是新农药开发与应用中必不可少的环节,不仅为新农药的登记提供基础毒理学数据,还可为其科学合理使用提供理论依据与指导。

苦参碱类农药产品主要包括苦参碱、苦参提取物和苦参总生物碱等,其中,以苦参提取物作为母药的苦参碱水剂最为常见,已被广泛用于蔬菜、水果、烟草及茶叶等农作物上多种病虫害的防治<sup>[19-20]</sup>。鉴于此,笔者系统测定并比较了苦参碱、苦参总生物碱、苦参乙醇浸膏和0.3%苦参碱水剂对生态环境中非靶标生物(鹌鹑、家蚕、蜜蜂、蚯蚓、蝌蚪、斑马鱼)的毒性及农作物(豇豆)对其的敏感性,以期为该类农药的登记及正确使用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 供试药剂 苦参碱(matrine)标准品(纯度≥95%),由内蒙古鄂尔多斯市金驼药业有限责任公司提供;苦参乙醇浸膏(苦参碱质量分数为4.3%,剩余部分包括其他初生和次生代谢物质):以苦参根由工业乙醇提取制备;苦参总生物碱(质量分数≥96%):从苦参乙醇浸膏中提取获得;0.3%苦参碱水剂由苦参乙醇浸膏、无水乙醇(5%)、吐温-80(6%)和水(84.7%)配制而成;助剂系统:为0.3%苦参碱水剂中除苦参乙醇浸膏之外的助剂(5%无水乙醇、6%吐温-80,以蒸馏水补足到100%)。除苦参碱标准品以外的其他供试药剂均为自提自制。

1.1.2 供试生物 鹌鹑 *Coturnix chinensis*: 美国红唇与朝鲜龙城的F<sub>1</sub>代,30日龄,购于陕西兴平养殖专业户。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。

家蚕 *Bombyx mori*: 品种为菁松×皓月,2~5龄幼虫,购于西北农林科技大学蚕桑研究所。

意大利蜂 *Apis mellifera* L.: 成年工蜂,购于陕西杨凌蜜蜂养殖户。

赤子爱胜蚯蚓 *Eisenia foetida*: 饲养3个月左右带有明显生殖环带,体重300~600 mg/只,购于陕西杨凌三度蚯蚓科技有限公司。

泽蛙 *Rana limnocharis*: 采自陕西杨凌渭河边孵化10d左右的蝌蚪,在实验室预养2d后,选用健壮、个体均一的蝌蚪,整个试验期间不喂食。

斑马鱼 *Brachydanio rerio*: 体长3~4 cm,个体质量(0.3±0.1) g,购于陕西杨凌水产养殖户。鱼苗健壮无病,大小一致,试验前在实验室条件

下驯养 7 d，每日喂食 1~2 次，曝气充氧，光照 14 h，及时清除粪便及食物残渣。试验前 1 d 至试验结束停止喂食，保持其他条件不变。

豇豆 *Vigna unguiculata*：供试品种为“一把抓”和“高科”，分别由武汉金阳红种苗农业有限公司和杨凌农业高科技发展股份有限公司提供。

1.2 试验设计与方法

试验均在西北农林科技大学无公害农药研究服务中心参照《化学农药环境安全评价试验准则》(以下简称“准则”)等相关试验标准进行。先进行预试验，确定受试生物对供试药剂的最低全致死剂量和最高全存活剂量。正式试验时，在此剂量范围内设置 5~7 个梯度浓度处理，以助剂系统作为 0.3% 苦参碱水剂的对照，以 5% 的乙醇水溶液作为其他处理的对照，每处理 3 个重复，每重复 10 只(头、尾)相应的生物个体(其中蚕茧量损失法试验中家蚕为 50 头，蜜蜂触杀毒性试验为 20 头，蝌蚪 20 尾)。斑马鱼、蝌蚪饲养和试验用水均采用经曝气处理 24 h 以上的自来水。试验过程中，若加入的供试药剂远高于标准规定的低毒水平剂量时，在相应时间内供试生物仍未出现死亡，则终止试验。

1.2.1 对鹌鹑的毒性试验 采用经口一次性染毒法<sup>[21]</sup>。供试鹌鹑以经口灌注法一次性给药 1.0 mL/100 g 鹌鹑，每组 10 只鹌鹑(雌雄各半)，连续 7 d 观察受试鹌鹑的死亡情况与中毒症状，试验在通风透光、温度 25℃±2℃ 的实验室中进行。

1.2.2 对家蚕的毒性试验

1.2.2.1 食下毒叶法 参考文献<sup>[22-24]</sup>方法，在直径 9 cm 的玻璃培养皿内饲养 2 龄起蚕，用不同浓度的药液 5 mL 浸渍 5 g 桑叶，晾干供蚕食用。整个试验期间饲喂处理桑叶，观察记录 24、48 和 96 h 受试家蚕中毒死亡情况。依据 0.3% 苦参碱水剂田间施药浓度与其致死中浓度(LC<sub>50</sub>)的比值，划分药剂对家蚕的风险等级<sup>[24]</sup>。

1.2.2.2 蚕茧量损失法 参考文献<sup>[23, 25]</sup>方法，将 5 g 新鲜桑叶用 5 mL 不同质量浓度药液浸渍，晾干备用。选用 2 龄起蚕作为供试虫体，每天用处理过的有毒桑叶喂养 3 次，直至结茧化蛹。供试药剂为 0.3% 苦参碱水剂，设 3 个浓度组，每组浓度分别为其 LC<sub>50</sub> 值的 1/10、1/100 和 1/1 000，同时设清水和助剂对照。在试验过程中，随机抽

取 20 个蚕茧，分别称量蚕茧和茧皮质量。

1.2.3 对蜜蜂的毒性试验

1.2.3.1 胃毒法 参考文献<sup>[23, 26]</sup>方法，将供试药液与蜂蜜按体积比 2 : 1 混匀制成药蜜，用 0.3 g 脱脂棉浸渍药蜜，置于装有 10 头蜜蜂的三角瓶的纱网上，通过网眼供蜜蜂摄食。观察并记录处理 24 h 和 48 h 蜜蜂死亡情况。

1.2.3.2 点滴法 参考文献<sup>[23, 26]</sup>方法，用微量注射器点滴 1.0 μL 质量浓度为 15 mg/mL 的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，观察并记录处理 24 h 和 48 h 蜜蜂中毒症状及死亡情况。

1.2.4 对蚯蚓的毒性试验 采用土壤浸泡法<sup>[27-28]</sup>。按比例将不同浓度药液加入 500 g 人工配制的标准土壤(表 1)中拌匀，补加适量蒸馏水，调节土壤含水率为 20%。将蚯蚓放入含有药土的标本瓶中，纱布扎瓶口，置于 20℃±1℃、湿度 80%~85% 的条件下培养，于第 7 d 和第 14 d 倒出瓶内土壤，观察记录蚯蚓的中毒及死亡情况，及时清除死蚯蚓。

| 表 1 标准土壤的组成                                     |                         |
|-------------------------------------------------|-------------------------|
| Table 1 The composition of standard soil sample |                         |
| 成分<br>Composition                               | 质量分数<br>Mass fraction/% |
| 石英砂<br>SiO <sub>2</sub>                         | 83                      |
| 膨润土<br>Bentonite                                | 5                       |
| 草炭<br>Peat                                      | 10                      |
| 马粪<br>Horse dung                                | 1                       |
| 碳酸钙<br>CaCO <sub>3</sub>                        | 1                       |

1.2.5 对蝌蚪的毒性试验 采用半静态法<sup>[29]</sup>。每缸分别配制不同浓度的药液各 2 L，充分搅拌均匀，投放蝌蚪 20 尾，调节试液温度在 20℃左右。每隔 24 h 更换 1 次药液，观察并记录 24 h 与 48 h 蝌蚪死亡情况。

1.2.6 对鱼类的毒性试验 采用半静态法<sup>[30]</sup>。供试斑马鱼在实验室条件下驯养 14 d，饲养及试验水温均为 25℃±2℃，光周期 L : D=16 h : 8 h。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。

1.2.7 对后茬作物豇豆生长的影响 采用土培法<sup>[31]</sup>。

选用直径 12 cm 的钵钵，装入药土 (用定量的供试药剂与土壤充分拌匀所得)，播入 2 粒种子，然后将钵钵置于人工气候箱中 (25 ℃ ± 2 ℃)，以底部吸湿法加水。定期 (7 d、14 d) 观察记录发芽率 (出苗率)、株高、主根长、须根数、植株鲜重和植株干重。

1.3 数据处理及毒性评价

试验数据利用 SPSS 20.0 进行统计，计算受试生物的 LC<sub>50</sub> 值或致死中量 (LD<sub>50</sub>) 及 95% 置信限，并依据“准则”中标准判定其毒性级别。

2 结果与分析

2.1 苦参碱制品对鹌鹑的毒性

测定结果 (表 2) 表明：苦参碱、苦参总生物碱、0.3% 苦参碱水剂和苦参乙醇浸膏经口灌注

7 d 后对鹌鹑的毒性均为低毒；但不同制品之间的致死中量 (LD<sub>50</sub>) 存在一定差异，其中 0.3% 苦参碱水剂和苦参乙醇浸膏较苦参碱和苦参总生物碱毒性更低。

2.2 苦参碱制品对家蚕的毒性

2.2.1 苦参碱制品对家蚕的急性毒性 食下毒叶法测定结果 (表 3) 表明：苦参总生物碱、0.3% 苦参碱水剂、苦参碱和苦参乙醇浸膏对家蚕的 LC<sub>50</sub> 值 (本文所涉及的剂量或浓度无特殊说明均为有效成分) 分别为 1 300、821、>3 000 和 >5 000 mg/L，根据农药对家蚕的毒性等级划分准则<sup>[22]</sup>，苦参碱制品对家蚕均为低毒。依据 0.3% 苦参碱水剂田间施药浓度 (参照中国农药信息网 0.3% 苦参碱水剂登记时的推荐用量<sup>[32]</sup>，4.87~7.80 g/hm<sup>2</sup>/LC<sub>50</sub> 的比值分析，苦参碱制品对家蚕均为低风险性。

表 2 苦参碱制品对鹌鹑的急性毒性

Table 2 Acute toxicities of matrine-based products on *Coturnix chinensis*

| 样品<br>Product                 | 时间<br>Time/d | 回归方程<br>Regression equations | 卡方值<br>$\chi^2$ | 致死中量 (95%置信限)(有效成分)/<br>(mg/kg鹌鹑) LD <sub>50</sub> (95%CL), a.i./(mg/kgquail) | 毒性等级<br>Toxicity grade <sup>[21]</sup> |
|-------------------------------|--------------|------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 苦参碱<br>Matrine                | 1            | $y = -10.69 + 3.86x$         | 0.18            | 592(452~784)                                                                  | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 2            | $y = -11.22 + 4.12x$         | 0.98            | 529 (400~671)                                                                 | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 3            | $y = -16.26 + 6.09x$         | 0.60            | 512 (380~558)                                                                 | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 7            | $y = -16.26 + 6.09x$         | 0.60            | 512 (380~558)                                                                 | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参总生物碱<br>Total alkaloid      | 1            | $y = -18.87 + 6.70x$         | 0.23            | 654 (550~778)                                                                 | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 2            | $y = -16.74 + 6.20x$         | 0.75            | 504 (411~594)                                                                 | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 3            | $y = -16.74 + 6.20x$         | 0.75            | 504 (411~594)                                                                 | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 7            | $y = -16.74 + 6.20x$         | 0.75            | 504 (411~594)                                                                 | 低毒 Low toxicity                        |
| 0.3% 苦参碱水剂<br>0.3% Matrine AS | 7            | —                            | —               | >3 000                                                                        | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参乙醇浸膏<br>Matrine extract     | 7            | —                            | —               | >1 000                                                                        | 低毒 Low toxicity                        |

注：“—”表示供试样品的剂量远高于标准规定的低毒水平剂量时死亡率仍为 0。  
Notes: “—” in the table indicates that the mortality of the tested organism is zero, which are treated with far higher dose than the standards dose of low toxicity levels.

表 3 苦参碱制品对家蚕的急性毒性 (96 h)

Table 3 Acute Toxicities of matrine-based products on *Bombyx mori* (96 h)

| 样品<br>Product                | 回归方程<br>Regression equations | 卡方值<br>$\chi^2$ | 致死中浓度 (95%置信限)<br>LC <sub>50</sub> (95%CL), a.i./(mg/L) | 毒性等级<br>Toxicity grade <sup>[22]</sup> | 风险性等级<br>Risk assessment level <sup>[24]</sup> |
|------------------------------|------------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------|
| 苦参总生物碱<br>Total alkaloid     | $y = -10.57 + 3.40x$         | 0.28            | 1 300 (899~1 727)                                       | 低毒 Low toxicity                        | 低风险性 Low risk                                  |
| 0.3%苦参碱水剂<br>0.3% matrine AS | $y = -9.38 + 3.22x$          | 0.69            | 821 (693~951)                                           | 低毒 Low toxicity                        | 低风险性 Low risk                                  |
| 苦参碱<br>Matrine               | —                            | —               | >3 000                                                  | 低毒 Low toxicity                        | 低风险性 Low risk                                  |
| 苦参乙醇浸膏<br>Matrine extract    | —                            | —               | >5 000                                                  | 低毒 Low toxicity                        | 低风险性 Low risk                                  |

注：0.3%苦参碱水剂田间施药浓度参照中国农药信息网 0.3%苦参碱水剂登记时的推荐用量 (4.87~7.80 g/hm<sup>2</sup>)；“—”表示供试样品的剂量远高于标准规定的低毒水平剂量时死亡率仍为 0。  
Note: The reference of the concentration of 0.3% matrine AS in the field applicationis from the recommended dosage of 0.3% matrine AS on the Chinese pesticide information network (4.87~7.80 g/hm<sup>2</sup>). “—”in the table indicates that the mortality of the tested organism is zero, which are treated with far higher dose than the standards dose of low toxicity levels.



2.2.2 0.3% 苦参碱水剂对家蚕的慢性毒性 测定 皮质量均无影响，各处理间也无显著差异，说明结果 (表 4) 表明，0.3% 苦参碱水剂对蚕茧和蚕茧 苦参碱水剂对家蚕无慢性毒性。

表 4 0.3% 苦参碱水剂对蚕茧的影响

| Table 4 The toxic effects of 0.3% matrine AS on the output of cocoon |                            |                            |                                  |                      |
|----------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------|
| 处理<br>Treatment                                                      | 有效剂量<br>Dose, a.i./ (mg/L) | 蚕茧质量<br>Weight of cocoon/g | 蚕茧皮质量<br>Weight of cocoon silk/g | 茧皮减产率<br>Loss rate/% |
| 1/10 LC <sub>50</sub>                                                | 82.0                       | 1.22 ± 0.08 a              | 0.22 ± 0.02 a                    | 4.35 ± 0.01 a        |
| 1/100 LC <sub>50</sub>                                               | 8.20                       | 1.19 ± 0.18 a              | 0.24 ± 0.03 a                    | -4.35 ± 0.02 a       |
| 1/1 000 LC <sub>50</sub>                                             | 0.82                       | 1.20 ± 0.09 a              | 0.24 ± 0.03 a                    | -4.35 ± 0.02 a       |
| 对照 Control                                                           |                            | 1.20 ± 0.14 a              | 0.23 ± 0.02 a                    | —                    |

注：表中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准误。数据后相同小写字母表示差异不显著 ( $P < 0.05$ )。  
Note: Each date is the mean(averages of three replications) ± SE. Values followed by same small letters indicated no significantly different at  $P < 0.05$ .

2.3 苦参碱制品对蜜蜂的毒性 毒性，但不同制品间存在差异。根据农药对蜜蜂点滴法测定结果表明：以 15.0 μg/头的剂量点的毒性等级划分准则<sup>[26]</sup>，苦参碱制品对蜜蜂无触滴处理后，48 h 后蜜蜂的死亡率为 0；胃毒法测定杀毒性，胃毒毒性均为低毒。结果 (表 5) 表明，苦参碱制品对蜜蜂具有一定的

表 5 苦参碱制品对蜜蜂的胃毒毒性 (48 h)

| Table 5 Stomach toxicities of matrine-based products on <i>Apis mellifera</i> L. (48 h) |              |                              |                 |                                                          |                                        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------|------------------------------|-----------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 样品<br>Product                                                                           | 时间<br>Time/h | 回归方程<br>Regression equations | 卡方值<br>$\chi^2$ | 致死中浓度 (95%置信限)<br>LC <sub>50</sub> (95%CL), a.i./ (mg/L) | 毒性等级<br>Toxicity grade <sup>[26]</sup> |
| 苦参总生物碱<br>Total alkaloid                                                                | 24           | $y = -12.31 + 3.69x$         | 0.20            | 2 165 (1 858~2 666)                                      | 低毒 Low toxicity                        |
|                                                                                         | 48           | $y = -12.54 + 4.00x$         | 1.43            | 1 361 (1 069~1 705)                                      | 低毒 Low toxicity                        |
| 0.3% 苦参碱水剂<br>0.3% matrine AS                                                           | 24           | $y = -7.64 + 2.84x$          | 1.30            | 485 (292~733)                                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                                                                                         | 48           | $y = -10.47 + 4.14x$         | 0.51            | 337 (214~482)                                            | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参碱<br>Matrine                                                                          | 24           | $y = -8.80 + 2.81x$          | 0.47            | 1 347 (838~1 925)                                        | 低毒 Low toxicity                        |
|                                                                                         | 48           | $y = -16.61 + 5.43x$         | 0.22            | 1 145 (901~1 389)                                        | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参乙醇浸膏<br>Matrine extract                                                               | 48           | —                            | —               | >3 000                                                   | 低毒 Low toxicity                        |

注：“—”表示供试样品的剂量远高于标准规定的低毒水平剂量时蜜蜂死亡率仍为 0。  
Note: “—” in the table indicates that the mortality of *A. mellifera* is zero, which are treated with far higher dose than the standards dose of low toxicity levels.

2.4 苦参碱制品对蚯蚓的毒性 在 400~600 mg/kg<sub>土壤</sub> 之间。根据农药对蚯蚓的毒性测定结果 (表 6) 表明，0.3% 苦参碱水剂对蚯蚓性等级划分准则<sup>[28]</sup>，苦参碱制品对蚯蚓的毒性均为低毒。蚯蚓的 LC<sub>50</sub> >1 000 mg/kg<sub>土壤</sub>，苦参总生物碱对蚯蚓的毒性比苦参碱和苦参乙醇浸膏高，但 LC<sub>50</sub> 值均

表 6 苦参碱制品对蚯蚓的毒性 (14 d)

| Table 6 Toxicities of matrine-based products on <i>Eisenia fetida</i> (14 d) |                              |                 |                                                                                                   |                                        |
|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 样品<br>Product                                                                | 回归方程<br>Regression equations | 卡方值<br>$\chi^2$ | 致死中浓度 (95%置信限)/(mg/kg <sub>土壤</sub> )<br>LC <sub>50</sub> (95%CL), a.i./ (mg/kg <sub>soil</sub> ) | 毒性等级<br>Toxicity grade <sup>[28]</sup> |
| 苦参总生物碱<br>Total alkaloid                                                     | $y = -2.72 + 1.04x$          | 2.38            | 428 (180~751)                                                                                     | 低毒 Low toxicity                        |
| 0.3% 苦参碱水剂<br>0.3% matrine AS                                                | —                            | —               | >1 000                                                                                            | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参碱<br>Matrine                                                               | $y = -4.99 + 1.82x$          | 1.62            | 549 (352~785)                                                                                     | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参乙醇浸膏<br>Matrine extract                                                    | $y = -2.64 + 0.96x$          | 3.73            | 564 (227~1 061)                                                                                   | 低毒 Low toxicity                        |

注：“—”表示供试样品的剂量远高于标准规定的低毒水平剂量时蚯蚓死亡率仍为 0。  
Notes: “—” in the table indicates that the mortality of *E. fetida* is zero, which are treated with far higher dose than the standards dose of low toxicity levels.

2.5 苦参碱制品对蝌蚪的毒性

测定结果 (表 7) 表明, 0.3% 苦参碱水剂对蝌蚪 48 h-LC<sub>50</sub> 值为 15 mg/L; 而以 100 mg/L 的苦参碱和苦参总生物碱处理蝌蚪, 24 h 和 48 h 均无死亡现象, 因此认为苦参碱和苦参总生物碱对蝌蚪的 LC<sub>50</sub> 值远大于 100 mg/L。根据农药对蛙类的毒性等级划分准则<sup>[29]</sup>, 苦参碱制品对蝌蚪均为低毒。

表 7 苦参碱制品对蝌蚪的毒性 (48 h)

Table 7 Toxicities of matrine-based products on *Rana limnochris* (48 h)

| 样品<br>Product                 | 时间<br>Time/h | 回归方程<br>Regression equations | 卡方值<br>$\chi^2$ | LC <sub>50</sub> (95%CL),<br>a.i./(mg/L) | 毒性等级<br>Toxicity grade <sup>[29]</sup> |
|-------------------------------|--------------|------------------------------|-----------------|------------------------------------------|----------------------------------------|
| 0.3% 苦参碱水剂<br>0.3% matrine AS | 24           | $y = -8.03 + 6.08x$          | 0.75            | 21 (19~23)                               | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 48           | $y = -4.43 + 3.81x$          | 0.64            | 15 (13~16)                               | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参乙醇浸膏<br>Matrine extract     | 24           | $y = -28.85 + 11.30x$        | 0.50            | 357 (335~392)                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 48           | $y = -19.88 + 8.21x$         | 0.95            | 263 (242~285)                            | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参碱<br>Matrine                | 48           | —                            | —               | >100                                     | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参总生物碱<br>Total alkaloid      | 48           | —                            | —               | >100                                     | 低毒 Low toxicity                        |

注: “—”表示供试样品的剂量远高于标准规定的低毒水平剂量时蝌蚪死亡率仍为 0。  
Note: “—” in the table indicates that the mortality of *R. limnochris* is zero, which are treated with far higher dose than the standards dose of low toxicity levels.

2.6 苦参碱制品对斑马鱼的毒性

测定结果 (表 8) 表明, 各供试样品对斑马鱼的毒性具有一定的差异, 其中 0.3% 苦参碱水剂的毒性比苦参乙醇浸膏高 10 倍。然而, 根据农药对鱼类的毒性等级划分准则<sup>[30]</sup>, 苦参碱制品对斑马鱼的毒性均为低毒。

表 8 苦参碱制品对斑马鱼的毒性 (96 h)

Table 8 Toxicities of matrine-based products on *Brachydonio rerio* (96 h)

| 样品<br>Product                 | 时间<br>Time/h | 回归方程<br>Regression equations | 卡方值<br>$\chi^2$ | LC <sub>50</sub> (95%CL), a.i./(mg/L) | 毒性等级<br>Toxicity grade <sup>[30]</sup> |
|-------------------------------|--------------|------------------------------|-----------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| 苦参总生物碱<br>Total alkaloid      | 24           | $y = -14.81 + 7.88x$         | 1.84            | 76 (63~96)                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 48           | $y = -14.81 + 7.88x$         | 1.84            | 76 (63~96)                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 72           | $y = -14.81 + 7.88x$         | 1.84            | 76 (63~96)                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 96           | $y = -14.42 + 7.95x$         | 1.98            | 65 (53~76)                            | 低毒 Low toxicity                        |
| 0.3% 苦参碱水剂<br>0.3% matrine AS | 24           | $y = -42.29 + 30.00x$        | 0.70            | 26 (14~27)                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 48           | $y = -32.56 + 23.90x$        | 0.54            | 23 (22~24)                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 72           | $y = -43.95 + 32.68x$        | 0.67            | 22 (19~23)                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 96           | $y = -24.23 + 18.61x$        | 0.30            | 20 (18~22)                            | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参碱<br>Matrine                | 24           | $y = -15.65 + 7.89x$         | 0.73            | 96 (71~112)                           | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 48           | $y = -15.65 + 7.89x$         | 0.73            | 96 (71~112)                           | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 72           | $y = -22.60 + 11.72x$        | 0.21            | 85 (49~94)                            | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 96           | $y = -22.60 + 11.72x$        | 0.21            | 85 (49~94)                            | 低毒 Low toxicity                        |
| 苦参乙醇浸膏<br>Matrine extract     | 24           | $y = -20.54 + 8.49x$         | 1.46            | 263 (159~297)                         | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 48           | $y = -24.97 + 10.41x$        | 0.37            | 251 (157~281)                         | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 72           | $y = -21.61 + 9.21x$         | 1.07            | 222 (194~249)                         | 低毒 Low toxicity                        |
|                               | 96           | $y = -20.63 + 9.02x$         | 0.82            | 193 (163~219)                         | 低毒 Low toxicity                        |

2.7 苦参碱制品对后茬作物豇豆的影响

测定结果 (表 9) 表明: 与对照相比, 各供试药剂对豇豆品种“一把抓”的各项测试指标的影响没有明显差异; 对“高科”的发芽率、株高、主根长和须根数也没有明显影响, 但对植株鲜重表现出一定的抑制作用, 且处理间有一定差异; 另外, 苦参碱制品有利于“高科”豇豆干物质的积累, 尤其是苦参碱水剂可明显提高其干重。以供试剂量 1 000 mg/kg<sub>干土</sub> 计算, 各苦参碱制品对作物的安全系数均远大于 10。根据农药对作物的风

表 9 苦参碱制品对后茬作物豇豆的影响 (14 d)

Table 9 Effect of matrine-based products on succeeding crop (cowpea)(14 d)

| 作物品种<br>Crop varieties | 样品<br>Product                 | 发芽率<br>Germination<br>rate/% | 株高<br>Plant height/cm | 主根长<br>Main root<br>length/cm | 单株须根数<br>Fibrous root number<br>per plant | 鲜重<br>Fresh weight/g | 干重<br>Dry weight/g |
|------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------------------|----------------------|--------------------|
| 一把抓<br>Yibazhua        | 苦参乙醇浸膏<br>Matrine extract     | 100                          | 16.59 ± 1.48 a        | 11.10 ± 2.15 a                | 32.80 ± 4.05 a                            | 1.510 ± 0.04 a       | 0.072 ± 0.004 a    |
|                        | 苦参碱<br>Matrine                | 100                          | 15.58 ± 0.96 a        | 14.80 ± 2.44 a                | 39.80 ± 1.98 a                            | 1.784 ± 0.22 a       | 0.076 ± 0.013 a    |
|                        | 苦参总生物碱<br>Total alkaloid      | 100                          | 14.00 ± 1.41 a        | 13.30 ± 2.46 a                | 27.00 ± 4.47 a                            | 1.520 ± 0.13 a       | 0.074 ± 0.005 a    |
|                        | 0.3% 苦参碱水剂<br>0.3% matrine AS | 100                          | 14.06 ± 0.92 a        | 10.50 ± 2.67 a                | 27.00 ± 2.48 a                            | 1.734 ± 0.18 a       | 0.084 ± 0.007 a    |
|                        | 空白对照<br>Blank control         | 100                          | 15.07 ± 0.96 a        | 11.80 ± 2.33 a                | 30.40 ± 3.23 a                            | 1.636 ± 0.03 a       | 0.070 ± 0.001 a    |
| 高科<br>Gaoke            | 苦参乙醇浸膏<br>Matrine extract     | 100                          | 16.83 ± 0.38 a        | 7.60 ± 1.36 a                 | 23.00 ± 3.81 a                            | 1.720 ± 0.09 ab      | 0.082 ± 0.007 a    |
|                        | 苦参碱<br>Matrine                | 100                          | 14.81 ± 0.85 a        | 9.80 ± 0.92 a                 | 32.60 ± 3.66 a                            | 1.394 ± 0.07 c       | 0.064 ± 0.006 bc   |
|                        | 苦参总生物碱<br>Total alkaloid      | 100                          | 12.29 ± 0.69 a        | 4.60 ± 0.43 a                 | 23.00 ± 2.16 a                            | 1.456 ± 0.06 c       | 0.074 ± 0.005 bc   |
|                        | 0.3% 苦参碱水剂<br>0.3% matrine AS | 100                          | 13.98 ± 0.94 a        | 6.60 ± 1.58 a                 | 25.20 ± 2.15 a                            | 1.764 ± 0.21 bc      | 0.088 ± 0.009 ab   |
|                        | 空白对照<br>Blank control         | 100                          | 15.61 ± 0.58 a        | 9.40 ± 1.52 a                 | 30.80 ± 3.46 a                            | 1.948 ± 0.18 a       | 0.062 ± 0.002 c    |

注：苦参碱制品试验浓度为有效成分 1 000 mg/kg土壤。表中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准误；数据后不同小写字母表示差异达显著水平 ( $P < 0.05$ )。

Note: The concentration of matrine-based products is 1 000 mg a.i./kg<sub>soil</sub>. Each date is the mean(averages of three replications) ± SE. Values followed by different small letters indicates significantly different at  $P = 0.05$ .

险等级划分标准<sup>[33]</sup>，4 种苦参碱制品对后茬种植的豇豆属于低风险性。

3 讨论

有研究表明，苦参碱类植物源农药不仅具有良好的杀虫、抑菌作用，而且可以促进作物生长，提高植物抗逆性<sup>[20]</sup>，是目前中国植物源农药开发的热点，探讨其对非靶标生物毒性具有重要意义。本研究结果表明，苦参碱、苦参总生物碱、0.3% 苦参碱水剂和苦参乙醇浸膏对非靶标生物鹌鹑、家蚕、蜜蜂、蚯蚓、蝌蚪和斑马鱼的毒性均为低毒，对后茬作物豇豆属于低风险性，该结果与陈昂<sup>[17]</sup>、王庆森<sup>[18]</sup>和熊鑫<sup>[10]</sup>等的研究结果较为一致；另有研究表明，苦参碱在 6 种自然水体（池塘水、河水、雨水、湖水、海水和自来水）中均属于易降解型，半衰期在 6.3~12.8 d 之间<sup>[16]</sup>。可见，苦参碱对非靶标生物毒性较低，对环境较为安全。

值得注意的是，尽管 0.3% 苦参碱水剂对非靶标生物的毒性为低毒，但其对斑马鱼、蝌蚪、蜜蜂和家蚕的 LC<sub>50</sub> 值均低于苦参碱、苦参总碱及浸膏，表明苦参碱制剂的毒性高于其母药。这一结果与雷公藤生物碱和川楝素等植物源农药的毒性

评价结果较为类似：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，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<sup>[34]</sup>；0.5% 川楝素乳油对家蚕、蜜蜂、蚯蚓和瓢虫等为低毒，对鹌鹑中毒，对蝌蚪高毒，而 78% 川楝素原粉对鹌鹑、家蚕、蜜蜂、蚯蚓、瓢虫和蝌蚪均为低毒<sup>[23]</sup>。其原因可能在于制剂中的助剂在供试药剂有效成分对生物表皮的穿透性方面起到了促进作用，致使毒性增加。

目前，中国对植物源农药母药的定义为：指在生产过程中得到的由有效成分及有关杂质组成的产品，可能含有少量必需的添加剂和适当的稀释剂；进行登记时，母药的产品识别可通过有效成分或标志性有效成分和限制性组分进行识别<sup>[35]</sup>。据此，苦参碱的母药，可以是苦参碱单体化合物，也可以是苦参总生物碱，或苦参乙醇浸膏，注明苦参碱为有效成分即可。本研究表明，苦参乙醇浸膏的毒性低于苦参总生物碱和苦参碱，这与雷公藤生物碱<sup>[34]</sup>、川楝素<sup>[23]</sup>、枯茗酸<sup>[33]</sup>等植物源农药较为类似，均表现为粗提物的毒性低于单体化合物。植物源农药的有效成分往往为多种成分的混合物，这些成分对靶标生物可能均产

生作用<sup>[20,36]</sup>, 因此, 尽管苦参碱、苦参总生物碱和苦参乙醇浸膏都可作为苦参碱类农药的母药, 但基于上述原因, 笔者认为苦参碱类农药产品在登记母药时, 应以苦参浸膏为主, 不但安全性高, 而且保证了有效成分的完整性, 符合植物源农药的特点。当然, 从化学组成来看: 苦参乙醇浸膏为多组分混合物, 包括蛋白、糖类、色素、生物碱及其他多种次生代谢物质; 而苦参总生物碱是苦参碱、氧化苦参碱等多种生物碱类化合物的总和; 苦参碱母药中则主要为苦参碱单体化合物。这些母药的毒性差异可能与其中化学成分的差异有关, 尤其是苦参乙醇浸膏的毒性低于苦参总生物碱和苦参碱, 其原因还有必要进一步研究。

总之, 苦参碱制品对家蚕、蜜蜂、蚯蚓、蝌蚪、斑马鱼和鹌鹑及后茬作物豇豆均较为安全, 其田间应用具有良好的生态效益; 建议在登记苦参碱母药时, 以苦参乙醇浸膏为主。

## 参考文献 (Reference):

- [1] 王丽丽, 倪寿山, 栾炳辉, 等. 5种植物源杀虫剂对葡萄园绿盲蝽的室内毒力及田间防效[J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(1): 46-49.  
WANG L L, NI S S, LUAN B H, et al. Laboratory toxicity and control efficacy of five botanical insecticides to *Apolygus lucorum*[J]. Chin J Biol Control, 2016, 32(1): 46-49.
- [2] 刘国华, 阚小妹. 0.38%苦参碱乳油防治茶尺蠖、菜青虫田间药效试验[J]. 植物保护, 2001, 27(5): 41-42.  
LIU G H, KAN X M. Efficacy trails of 0.38% EC matrine in fields[J]. Plant Prot, 2001, 27(5): 41-42.
- [3] YE G Y, XIAO Q, CHEN M, et al. Tea: biological control of insect and mite pests in China[J]. Biol Control, 2014, 68: 73-91.
- [4] 赵阳, 朱景乐, 杜红岩, 等. 3种生物源杀虫剂对杜仲梦尼夜蛾的毒力及防效[J]. 植物保护, 2015, 41(3): 210-214.  
ZHAO Y, ZHU J L, DU H Y, et al. Toxicity and field efficacy of three biopesticides to *Orthosia songi*[J]. Plant Prot, 2015, 41(3): 210-214.
- [5] 杨雪云, 赵博光, 巨云为. 苦参碱和氧化苦参碱的抑菌活性及增效作用[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2008, 32(2): 79-82.  
YANG X Y, ZHAO B G, JU Y W. Antifungal activities and synergetic tests of matrine and oxymatrine to some tree pathogens[J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed), 2008, 32(2): 79-82.
- [6] 吕朝军, 钟宝珠, 孙晓东, 等. 几种植物源杀虫剂对螺旋粉虱的生物活性及田间防治效果[J]. 热带作物学报, 2009, 30(12): 1865-1869.  
LÜ C J, ZHONG B Z, KONG X D, et al. Bioactivities of several botanical pesticides against spiraling whitefly (*Aleurodicus dispersus* Russell)[J]. Chin J Trop Crops, 2009, 30(12): 1865-1869.
- [7] ZANARDI O Z, RIBEIRO L D P, ANSANTE T F, et al. Bioactivity of a matrine-based biopesticide against four pest species of agricultural importance[J]. Crop Prot, 2015, 67: 160-167.
- [8] LUO S P, NARANJO S E, WU K M. Biological control of cotton pests in China[J]. Biol Control, 2014, 68: 6-14.
- [9] 冯俊涛, 石勇强, 张兴. 56种植物抑菌活性筛选试验[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(2): 65-68.  
FENG J T, SHI Y Q, ZHANG X. Screening studies on fungistasis of 56 plant extracts[J]. J Northwest Sci Tech Univ Agric For (Nat Sci Ed), 2001, 29(2): 65-68.
- [10] 熊鑫, 郭树奇, 李琳, 等. 苦豆子生物碱对番茄生长及果实品质的影响[J]. 中国农业科学, 2015, 48(9): 1737-1746.  
XIONG X, GUO S Q, LI L, et al. Effect of *Sophora alopecuroides* alkaloids on tomato growth and fruit quality[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(9): 1737-1746.
- [11] 赵仲仁, 李广仁, 郑巧兰, 等. 苦参碱对植物生长的刺激作用[J]. 植物学报, 1988, 30(6): 614-618.  
ZHAO Z R, LI G R, ZHENG Q L, et al. Study on the plant growth-stimulating activities of matrine[J]. Acta Botanica Sinica, 1988, 30(6): 614-618.
- [12] ISMAN M B. Botanical insecticides: a global perspective[M]//GROSS A D, COATS J R, DUKE S O, et al. Biopesticides: State of the Art and Future Opportunities. Washington, DC: American Chemical Society, 2014: 21-31.
- [13] 中国农药信息网. 农药登记数据[EB/OL]. (2017-08-01). <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>  
China Pesticide Information Network. Data of pesticide registration[EB/OL]. (2017-08-01). <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>
- [14] 郝佳, 吴志凤, 邱晓鹏, 等. 高效液相色谱法检测苦参碱在小白菜及土壤中的残留与消解动态[J]. 农药学学报, 2016, 18(3): 367-372.  
HAO J, WU Z F, QIU X P, et al. Determination and study on residue and dissipation of matrine in *Brassica rapa* L. *chinensis* Group. and soil by high performance liquid chromatography[J]. Chin J Pestic Sci, 2016, 18(3): 367-372.
- [15] 孙扬, 徐应明, 秦冬梅, 等. 苦参碱在黄瓜和土壤中的检测方法及其残留动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(4): 686-691.  
SUN Y, XU Y M, QIN D M, et al. Residue detection and degradation of matrine in cucumber and soil[J]. J Agro-Environ Sci, 2010, 29(4): 686-691.
- [16] 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]. 农药学学报, 2017, 19(3): 347-354.  
MA Z Q, DOU M X, YAO M, et al. Hydrolysis dynamic of matrine and its degradation properties in natural waters[J]. Chin J Pestic Sci, 2017, 19(3): 347-354.
- [17] 陈昂. 五种植物源农药的环境毒性评价[D]. 长沙: 中南大学, 2010.  
CHEN A. Environmental toxicity evaluation of five botanical pesticides[D]. Changsha: Central South University, 2010.
- [18] 王庆森, 鞠晓蕾, 黄建. 六斑月瓢虫对茶蚜的捕食作用及生物农药的安全性评价[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2014, 43(6):



- 568-572.
- WANG Q S, JU X L, HUANG J. Predation of *Menochilus sexmaculata* fabricius on *Toxoptera aurantii* (Boyer) and security evaluation of several botanical biopesticides[J]. J Fujian Agric For Univ (Nat Sci Ed), 2014, 43(6): 568-572.
- [19] 付颖, 王常波, 叶非. 我国苦参碱农药研究应用概况[J]. 农药科学与管理, 2005, 26(12): 30-33.
- FU Y, WANG C B, YE F. The application of *Sophora flavescens* ait. alkaloids in China[J]. Pestic Sci Admin, 2005, 26(12): 30-33.
- [20] 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.
- ZHANG X, MA Z Q, FENG J T, et al. Review on research and development of botanical pesticides[J]. Chin J Biol Control, 2015, 31(5): 685-698.
- [21] 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: GB/T 31270.9—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides-part 9: avian acute toxicity test: GB/T 31270.9—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2015.
- [22] 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: GB/T 31270.11—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides-part 11: silkworm acute toxicity test: GB/T 31270.11—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2015.
- [23] 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 Y N, MA Z Q, WANG H P, et al. Evaluation of the toxicity of botanical pesticide toosendanin to non-target organisms[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2007, 27(12): 2038-2045.
- [24] 陈伟国, 鲁兴萌. 农药对家蚕的毒性和安全性评价研究[J]. 蚕业科学, 2012, 38(2): 329-336.
- CHEN W G, LU X M. An investigation on toxicity and safety evaluation of pesticides to silkworm, *Bombyx mori*[J]. Sci Seric, 2012, 38(2): 329-336.
- [25] 韩农, 陈鹤鑫, 黄欣, 等. 杀菌剂叶青双对家蚕毒性研究[J]. 环境污染与防治, 1995, 17(2): 14-16.
- HANG N, CHEN H X, HUANG X, et al. Toxicity study of fungicide N, Nx-Methylene-bis (2-amino-5-sulphydryl-1, 3, 4-thiadiazole) to Chinese silkworms[J]. Environ Pollut Control, 1995, 17(2): 14-16.
- [26] 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: GB/T 31270.10—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides-Part 10: Honeybee acute toxicity test: GB/T 31270.10—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014.
- [27] 张壬午, 李治祥, 白青云, 等. 应用标准方法测定农药对蚯蚓的毒性[J]. 环境科学学报, 1985, 5(3): 327-334.
- ZHANG R W, LI Z X, BAI Q Y, et al. Application of a standardized method for determining acute toxicity of some pesticides in earthworms[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 1985, 5(3): 327-334.
- [28] 化学农药环境安全评价试验准则第15部分: 蚯蚓急性毒性试验: GB/T 31270.15—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides-Part 15: Earthworm acute toxicity test: GB/T 31270.15—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014.
- [29] 化学农药环境安全评价试验准则第18部分: 天敌两栖类急性毒性试验: GB/T 31270.18—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides-Part 18: Amphibian acute toxicity test: GB/T 31270.18—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014.
- [30] 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: GB/T 31270.12—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides-Part 12: Fish acute toxicity test: GB/T 31270.12—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014.
- [31] 化学农药环境安全评价试验准则第19部分: 非靶标植物影响试验: GB/T 31270.19—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides-Part 19: Effects on non-target plants: GB/T 31270.19—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014.
- [32] 农业部农药检定所. 中国农药信息网农药综合查询系统[DB/OL]. [2018-01-10]. <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>
- Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture. Integrated pesticide query system in China pesticide information network[DB/OL]. [2018-01-10]. <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>
- [33] 李婷. 孜然杀菌剂的环境安全性评价[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- LI T. Environmental safety evaluation of cumin fungicide[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2012.
- [34] 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.
- WANG L B, LI T, HE J, et al. Toxicity of alkaloid-based products from *Tripterygium wilfordii* on non-target organisms[J]. J Agro-Environ Sci, 2012, 31(6): 1070-1076.
- [35] 中国农药信息网. 中华人民共和国农业部公告第2569号. (2017-09-29). <http://www.chinapesticide.org.cn/fgzcwj/8743.jhtml>
- China Pesticide Information Network. No. 2569 of the ministry of agriculture of the People's Republic of China. (2017-09-29). <http://www.chinapesticide.org.cn/fgzcwj/8743.jhtml>
- [36] 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 X. Insecticidal properties of chinaberry bark extracts against imported cabbage worm (*Pieris rapae* L.)[J]. Acta Phytopythylacica Sinica, 1989, 16(3): 205-210.