

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20210918002

陈吉祥, 于伟丽, 王广友, 等. 氯虫苯甲酰胺对环境生物的急性毒性与安全性评价[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(6): 452-461

Chen J X, Yu W L, Wang G Y, et al. Acute toxicity and safety evaluation of chlorantraniliprole to environmental organisms [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(6): 452-461 (in Chinese)

氯虫苯甲酰胺对环境生物的急性毒性与安全性评价

陈吉祥, 于伟丽[#], 王广友, 苏磊, 魏成彩, 李丽霞, 刘小缙, 吴培^{*}

山东省农药科学研究院/山东省化学农药重点实验室, 济南 250000

收稿日期: 2021-09-18 录用日期: 2022-02-21

摘要: 为明确氯虫苯甲酰胺(chlorantraniliprole)对环境生物的安全性, 参照《化学农药环境安全评价试验准则》(GB/T 31270—2014)和《化学农药 天敌(瓢虫)急性接触毒性试验准则》(NY/T 3088—2017), 开展了 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对 6 种环境生物的急性毒性试验及安全性评价。结果表明, 该药剂对日本鹌鹑急性经口毒性 7 d-LD₅₀ > 2 000 mg a.i.·kg⁻¹ (以单位体质量计), 低毒; 对家蚕急性经口毒性 4 d-LC₅₀ 为 0.0588 mg a.i.·L⁻¹, 剧毒; 对蚯蚓急性毒性 14 d-LC₅₀ > 100 mg a.i.·kg⁻¹ (以单位土壤干质量计), 低毒; 对蜜蜂经口和接触毒性 2 d-LD₅₀ 分别为 133 μg a.i.·蜂⁻¹ 和 77.3 μg a.i.·蜂⁻¹, 低毒; 对七星瓢虫急性接触毒性 15 d-LR₅₀ 为 37.3 g a.i.·hm⁻², 中风险; 对斑马鱼急性毒性 4 d-LC₅₀ 为 10.2 mg a.i.·L⁻¹, 低毒。因此, 氯虫苯甲酰胺对环境生物具有选择性, 应避免在蚕室和桑园附近使用, 同时避免在天敌昆虫繁育期使用。

关键词: 氯虫苯甲酰胺; 环境生物; 毒性; 安全性

文章编号: 1673-5897(2022)6-452-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Acute Toxicity and Safety Evaluation of Chlorantraniliprole to Environmental Organisms

Chen Jixiang, Yu Weili[#], Wang Guangyou, Su Lei, Wei Chengcai, Li Lixia, Liu Xiaoman, Wu Pei^{*}

Key Laboratory of Chemical Pesticide of Shandong Province, Shandong Academy of Pesticide Sciences, Jinan 250000, China

Received 18 September 2021 accepted 21 February 2022

Abstract: To clarify the safety of chlorantraniliprole to environmental organisms, the acute toxicity tests of 70% chlorantraniliprole water dispersible granule to six environmental organisms tests were conducted according to “Test Guidelines on Environmental Safety Assessment for Chemical Pesticides (GB/T 31270—2014)”, and “Chemical Pesticide-Guideline for Natural Enemy (Ladybird Beetles) Acute Contact Toxicity Test (NY/T 3088—2017)”. The results showed that chlorantraniliprole was low toxicity to *Coturnix japonica* with more than 2 000 mg a.i.·kg⁻¹ (based on body mass) dose of 7 d-LD₅₀ acute oral toxicity, was extreme toxicity to *Bombyx mori* with 0.0588 mg a.i.·L⁻¹ dose of 4 d-LC₅₀ acute oral toxicity, and was low toxicity to *Eisenia foetida* with more than 100 mg a.i.·kg⁻¹ in dry soil of 14 d-LC₅₀ acute toxicity. Besides, chlorantraniliprole was low toxicity to *Apis mellifera* with 133 μg a.i.·bee⁻¹ and 77.3 μg a.i.·bee⁻¹ doses of 2 d-LD₅₀ of acute oral toxicity and acute contact toxicity, re-

基金项目: 山东省农业科学院农业科技创新工程资助项目(CXGC2022A20, CXGC2022A24)

第一作者: 陈吉祥(1992—), 男, 硕士, 研究方向为农药环境毒理学, E-mail: chenjx1023@126.com

* 通信作者 (Corresponding author), E-mail: 2435724260@qq.com

共同通信作者 (Co-corresponding author), E-mail: 313304200@163.com

spectively, was medium risk to *Coccinella septempunctata* with $37.3 \text{ g a.i.} \cdot \text{hm}^{-2}$ dose of 15 d-LR₅₀ acute contact toxicity, and was low toxicity to *Brachydanio rerio* with $10.2 \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$ dose of 4 d-LC₅₀ acute toxicity. Therefore, chlorantraniliprole is selective to environmental organisms and should be forbidden to apply in surrounding silk-worm breeding areas and mulberry orchards. Besides, it should not be used during the breeding period of natural enemies.

Keywords: chlorantraniliprole; environmental organism; toxicity; safety

农药作为减少病虫害、调节植物生长的重要生产资料在农业生产中发挥着不可或缺的作用,但同时也带来了突出的生态环境问题^[1]。因此,在农药产品研发、注册登记与风险评估中,应以新的农药管理政策为导向,追求新化合物高活性的同时也要确保人体健康和环境安全,促进环境友好型绿色农药产品的创制与推广,加速推动农药产业升级。

双酰胺类杀虫剂是继新烟碱类杀虫剂之后又一重大突破,该类药剂通过激活昆虫鱼尼丁(ryanodine receptor, RyR)受体,导致昆虫过度释放平滑肌和横纹肌细胞内钙库中的钙离子,引起肌肉调节功能衰弱,致使昆虫瘫痪死亡^[2-4]。由于靶标昆虫与其他生物间鱼尼丁受体存在差异,这为双酰胺类杀虫剂在农业害虫防治上提供了优异的选择性。近年来,氟苯虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺、环溴虫酰胺、氟氰虫酰胺和溴虫氟苯双酰胺等产品陆续上市^[5]。

氯虫苯甲酰胺(chlorantraniliprole)是美国杜邦公司开发的一种邻氨基苯甲酰胺类杀虫剂,作为解决传统农药抗性问题的良好替代品,具有高效、低毒和选择性高等特点^[6]。近几年,氯虫苯甲酰胺在我国防治入侵害虫美国白蛾、草地贪夜蛾及传统农业害虫上得到广泛推广和应用。随着氯虫苯甲酰胺的大量使用,其抗性^[7-8]和对环境生物的潜在风险^[9-11]也逐渐显露。氯虫苯甲酰胺对鳞翅目家蚕的毒性毋庸置疑,亚致死剂量的氯虫苯甲酰胺会影响家蚕变态发育^[10]。Naiara Gomes等^[11]研究发现农田中使用推荐浓度的氯虫苯甲酰胺会对蜜蜂的飞行能力产生负面影响。在对水生环境生物上,研究表明氟苯虫酰胺会在环境中分解成对一些水生无脊椎动物产生严重危害的持久性物质,2018年我国禁止其在水稻作物上使用,与氟苯虫酰胺相比,目前仍在水稻上有登记的氯虫苯甲酰胺对水生无脊椎动物的毒性同为剧毒,其土壤吸附性更差,对鱼类慢性毒性较高且降解较慢^[6]。目前关于氯虫苯甲酰胺对环境生物的潜在风险还没有系统定论,为综合评价氯虫苯甲酰胺对环境非靶标生物的安全性,根据我国现行

农药登记环境毒理试验要求,本研究参考《化学农药环境安全评价试验准则》(GB/T 31270—2014)^[12-16]和《化学农药天敌(瓢虫)急性接触毒性试验准则》(NY/T 3088—2017)^[17],开展了氯虫苯甲酰胺对鹌鹑、家蚕、蜜蜂、蚯蚓、瓢虫和斑马鱼6种环境生物的急性毒理研究及安全性评价,旨在为全面评估该类杀虫剂的环境风险提供科学依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 试验材料

日本鹌鹑(*Coturnix japonica*),嘉祥县鸿新鹌鹑养殖有限公司;家蚕(*Bombyx mori* L.),品种为“菁松×皓月”,山东广通蚕种有限公司;赤子爱胜蚯蚓(*Eisenia fetida*),济南市宏源蚯蚓养殖基地;意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.),济南伟宏生态蜜蜂园有限公司;七星瓢虫(*Coccinella septempunctata*),山东省农药科学研究院测试中心;斑马鱼(*Brachydanio rerio*),山东鱼之道生物技术有限公司。

70%氯虫苯甲酰胺水分散粒剂(推荐使用剂量: $21 \sim 31.5 \text{ g a.i.} \cdot \text{hm}^{-2}$),山东邹平农药有限公司提供。

1.2 试验方法

1.2.1 鸟毒性试验

鸟毒性试验采用灌药法^[12]。试验鹌鹑同批孵化,选择(30±5)日龄,体质量90~100 g,健康、无病、活泼的鹌鹑用于试验,试验前16 h停止喂食,试验温度(25±2)℃,相对湿度50%~70%,14 h(光照):10 h(黑暗),室内排气扇通风。根据预试验结果,试验设计 $2\,000 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以单位体质量计)限度试验剂量,采用经口给药,一次性灌胃染毒,给药量为 $1 \text{ mL} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ (以单位体质量计),以纯水处理作为对照,每处理10只鹌鹑(雌雄各半),无需重复,给药后常规饲养。观察并记录受试鹌鹑1~7 d中毒症状及死亡数,求LD₅₀。依据农药对鸟类的急性毒性登记划分标准(剧毒:LD₅₀≤10 mg a.i.·kg⁻¹(以单位体质量计);高毒:10 mg a.i.·kg⁻¹<LD₅₀≤50 mg a.i.·kg⁻¹(以单位体质量计);中毒:50 mg a.i.·kg⁻¹<LD₅₀)。

$\leq 500 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以单位体质量计); 低毒: $\text{LD}_{50} > 500 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以单位体质量计), 判定毒性等级。

1.2.2 家蚕毒性试验

家蚕毒性试验采用浸叶法^[13]。家蚕饲养在人工气候箱中, 试验温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度为 70% ~ 80%, 14 h (光照): 10 h (黑暗), 试验用蚕选择个体大小一致健康的 2 龄起蚕。试验设计 0.0296、0.0444、0.0667、0.100 和 0.150 $\text{mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$ 共 5 个试验剂量, 将药剂用纯水稀释至相应试验浓度, 在不同质量浓度药液浸渍桑叶 10 s, 悬挂晾干后置于 15 mL 培养皿中, 每个重复接入 20 头 2 龄起蚕, 置于培养箱中饲养, 每处理 3 次重复, 以纯水处理作为对照。观察并记录处理后家蚕 1 ~ 4 d 中毒症状及死亡数, 求 LC_{50} 。依据农药对家蚕的急性毒性等级划分标准 (剧毒: $\text{LC}_{50} \leq 0.5 \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$; 高毒: $0.5 \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1} < \text{LC}_{50} \leq 20 \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$; 中毒: $20 \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1} < \text{LC}_{50} \leq 200 \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$; 低毒: $\text{LC}_{50} > 200 \text{ mg a.i.} \cdot \text{L}^{-1}$), 判定毒性等级。

1.2.3 蚯蚓毒性试验

蚯蚓毒性试验采用人工土壤混药法^[14]。蚯蚓室内饲养 2 月龄以上, 选择已出现生殖带, 体长 5 ~ 6 cm, 体质量 300 ~ 600 mg 的个体用于试验, 试验蚯蚓饲养在人工气候箱中, 温度为 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度 70% ~ 90%, 光强 400 ~ 800 lx 连续光照。人工土壤由 10% 泥炭藓、20% 高岭土、68% 石英砂和 2% 碳酸钙配制而成。根据预试验结果, 试验设计 100 $\text{mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以单位土壤干质量计) 限度试验剂量, 将供试药剂溶解在定量纯水中, 将药液加入人工土壤, 混匀, 调节土壤水分, 将试验土壤装到 1 L 烧杯中, 每个烧杯放入 10 条蚯蚓, 每处理设 3 个重复, 同时设空白对照组。观察并记录蚯蚓处理后第 7 天、第 14 天的中毒症状和死亡数, 求 LC_{50} 。依据农药对蚯蚓的急性毒性等级划分标准 (剧毒: $\text{LC}_{50} \leq 0.1 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以单位土壤干质量计); 高毒: $0.1 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1} < \text{LC}_{50} \leq 1.0 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以单位土壤干质量计); 中毒: $1.0 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1} < \text{LC}_{50} \leq 10 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以单位土壤干质量计); 低毒: $\text{LC}_{50} > 10 \text{ mg a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以单位土壤干质量计), 判定毒性等级。

1.2.4 蜜蜂毒性试验

蜜蜂于室外自然条件下人工控制饲养, 蜜蜂于试验前 1 d 收集, 饲喂 50% 蔗糖水溶液, 试验温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度 50% ~ 70%, 黑暗条件下使蜜蜂保持 24 h 适应期, 适应期后观察蜜蜂个体的活

力, 剔除死亡或表现异常的个体。蜜蜂急性经口毒性试验采用摄入法^[15]。试验设计 37.5、75.0、150、300 和 600 $\mu\text{g a.i.} \cdot \text{蜂}^{-1}$ 共 5 个试验剂量, 将供试药剂用纯水配制成相应浓度, 然后将上述药液分别与 50% 蔗糖水以 1:1 混匀。试验前蜜蜂饥饿处理 2 h, 按 10 $\mu\text{L} \cdot \text{蜂}^{-1}$ 药液量加入饲喂器中供蜜蜂取食, 以不含被试物的蔗糖水作为对照, 每重复 10 只蜜蜂, 每处理 3 次重复。观察并记录蜜蜂处理后 1 d 和 2 d 中毒症状及死亡数, 求 LD_{50} 。依据农药对蜜蜂急性经口毒性等级划分标准 (剧毒: $\text{LD}_{50} \leq 0.001 \mu\text{g a.i.} \cdot \text{蜂}^{-1}$; 高毒: $0.001 \mu\text{g a.i.} \cdot \text{蜂}^{-1} < \text{LD}_{50} \leq 2.00 \mu\text{g a.i.} \cdot \text{蜂}^{-1}$; 中毒: $2.0 \mu\text{g a.i.} \cdot \text{蜂}^{-1} < \text{LD}_{50} \leq 11.0 \mu\text{g a.i.} \cdot \text{蜂}^{-1}$; 低毒: $\text{LD}_{50} > 11 \mu\text{g a.i.} \cdot \text{蜂}^{-1}$), 判定毒性等级。

蜜蜂急性接触毒性试验采用点滴法^[15]。试验设计 29.6、44.4、66.7、100 和 150 $\mu\text{g a.i.} \cdot \text{蜂}^{-1}$ 共 5 个试验剂量, 将供试药剂用丙酮配制成相应浓度, 将度过适应期的蜜蜂进行氮气麻醉, 然后用手持式微量点滴器将药液点滴在蜜蜂的中胸背板处, 点滴量为 1.0 $\mu\text{L} \cdot \text{只}^{-1}$, 待蜜蜂完全恢复前装入蜂盒内, 饲喂 50% 蔗糖水, 同时设置丙酮溶剂对照和空白对照, 每重复 10 只蜜蜂, 每处理 3 次重复。观察并记录蜜蜂处理后 1 d 和 2 d 中毒症状及死亡数, 求 LD_{50} 。农药对蜜蜂急性接触毒性等级划分标准同农药对蜜蜂急性经口毒性等级划分标准。

1.2.5 瓢虫毒性试验

瓢虫毒性试验采用药膜法^[17]。供试瓢虫饲养于温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、16 h (光照): 8 h (黑暗), 湿度 60% ~ 90% 的恒温光照气候箱中。试验设计 17.8、26.7、40.0、60.0 和 90.0 $\text{g a.i.} \cdot \text{hm}^{-2}$ 共 5 个试验剂量, 将药剂用纯水稀释至相应试验浓度, 取 0.5 mL 药液加入指形管中 (内表面积为 38.5 cm^2), 于滚膜机上滚动至晾干, 制成均匀药膜管, 然后选取大小一致的瓢虫 2 龄幼虫接入药膜管中, 每管 1 头, 每天饲喂足量的豆蚜, 直至羽化。以纯水处理作为对照, 每个重复 10 头, 每个处理重复 3 次。每天观察并记录瓢虫的中毒症状及死亡数, 求 LR_{50} 并计算安全系数。依据农药对瓢虫的急性接触毒性等级划分标准 (极高风险性: 安全系数 ≤ 0.05 ; 高风险性: $0.05 < \text{安全系数} \leq 0.5$; 中等风险性: $0.5 < \text{安全系数} \leq 5$; 低毒: 安全系数 > 5), 判定风险等级。

1.2.6 斑马鱼毒性试验

斑马鱼毒性试验采用半静态法进行试验^[16], 试验期间每隔 24 h 更换一次试验药液。斑马鱼在试

实验室条件下驯养 7~14 d,每天光照 12~16 h,水温 21~25 ℃,试验前 24 h 停止喂食,试验期间亦不喂食,选择体长(2±1) cm 健康活泼的斑马鱼用于试验。试验设计 92.0、106、122、140 和 161 mg a.i.·L⁻¹ 共 5 个试验剂量,用曝气水溶解稀释,将上述药液分别过 0.45 μm 滤膜,取 2 L 上述药液转移至 5 L 烧杯中用于试验,以曝气水为空白对照,每个处理 10 尾斑马鱼,无需重复。观察并记录受试斑马鱼 24、48、72 和 96 h 的中毒症状及死亡数,用玻璃棒轻触斑马鱼尾部,无可见运动即为死亡,及时清除死亡斑马鱼。于试验前 0 h 和试验后 1~4 d 从试验药液中取样,检测试验药液中有效成分的浓度,根据实测浓度求 LC₅₀。根据农药对鱼类的急性毒性等级划分标准(LC₅₀≤0.1 mg a.i.·L⁻¹ 为剧毒,0.1 mg a.i.·L⁻¹<LC₅₀≤1.0 mg a.i.·L⁻¹ 为高毒,1.0 mg a.i.·L⁻¹<LC₅₀≤10 mg a.i.·L⁻¹ 为中毒,LC₅₀>10 mg a.i.·L⁻¹ 为低毒),判定毒性等级。

氯虫苯甲酰胺检测采用 Agilent 1260 高效液相色谱仪,DAD 检测器。检测条件:紫外检测器的检

测波长为 245 nm;流动相为 0.05% 磷酸水:甲醇(30:70, V:V),流速为 1 mL·min⁻¹;进样体积为 10 μL;柱温为 30 ℃,色谱柱为 Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm×150 mm)。

准确称量氯虫苯甲酰胺标准品,配成系列标准溶液,试验浓度在标准溶液浓度范围内,进行浓度测定,并绘制标准曲线。在标准系列浓度范围内,浓度与峰面积有良好的线性关系。回收率试验表明,氯虫苯甲酰胺的回收率均>90%。

1.3 数据来源与处理

死亡率=死亡虫数/接虫总数×100%;校正死亡率=(处理组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组死亡率)×100%;安全系数=药物对被试生物的 LR₅₀/该药物的田间推荐施用浓度。采用 SPSS Statistics 22.0 对数据进行 Tukey's HSD 检验。根据剂量对数值和校正死亡率进行分析(Probit analysis)。有效成分为氯虫苯甲酰胺的生态毒性数据来自欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA),如表 1 所示。

表 1 氯虫苯甲酰胺的生态毒性数据
Table 1 Ecotoxicity data of chlorantraniliprole

毒性终点类型 Toxicity endpoint type	物种 Species	毒性终点值 Toxicity endpoint value	数据来源 Data sources
鸟类急性经口 LD ₅₀ Acute oral LD ₅₀ of birds	北美鹌鹑 North American quail	>2 250 mg a.i.·kg ⁻¹ (以单位体质量计 Based on body mass)	EFSA
鸟类急性饲喂 LD ₅₀ Acute feeding LD ₅₀ of birds	北美鹌鹑 North American quail	1 729 mg a.i.·kg ⁻¹ (以单位体质量计 Based on body mass)	EFSA
鸟类繁殖 NOEC Reproductive NOEC of birds	北美鹌鹑 North American quail	10.1 mg a.i.·kg ⁻¹ (以单位体质量计 Based on body mass)	EFSA
蚯蚓急性 LC ₅₀ Acute LC ₅₀ of <i>Eisenia foetida</i>	赤子爱蚯蚓 <i>Eisenia foetida</i>	>1 000 mg a.i.·kg ⁻¹ (以单位土壤干质量计 Based on dry soil mass)	EFSA
蚯蚓繁殖 LC ₅₀ Reproductive LC ₅₀ of <i>Eisenia foetida</i>	赤子爱蚯蚓 <i>Eisenia foetida</i>	350 mg a.i.·kg ⁻¹ (以单位土壤干质量计 Based on dry soil mass)	EFSA
蜜蜂急性经口 LD ₅₀ Acute oral LD ₅₀ of bee	意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera</i> L.	>104.1 μg a.i.·蜂 ⁻¹ >104.1 μg a.i.·bee ⁻¹	EFSA
蜜蜂急性接触 LD ₅₀ Acute contact LD ₅₀ of bee	意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera</i> L.	>4 μg a.i.·蜂 ⁻¹ >4 μg a.i.·bee ⁻¹	EFSA
鱼类急性 LC ₅₀ Acute LC ₅₀ of fish	斑马鱼 <i>Brachydanio rerio</i>	11.5 mg a.i.·L ⁻¹	EFSA
鱼类慢性 NOEC Chronic NOEC of fish	虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	0.11 mg a.i.·L ⁻¹	EFSA

2 结果 (Results)

2.1 鸟急性毒性

试验期间,对照组和处理组鹌鹑均无死亡,药剂处理组鹌鹑表现精神萎靡、羽毛蓬松等症状,24 h 后恢复正常。70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对鹌鹑的毒性试验结果如表 2 所示,结果表明,该药剂对鹌鹑急性经口毒性 7 d-LD₅₀>2 000 mg a.i.·kg⁻¹ (以单位体质量计)。依据农药对鸟类的急性毒性登记划分标准,该药剂对鹌鹑急性毒性经口毒性为“低毒”。

2.2 家蚕急性毒性

试验期间,对照组家蚕无死亡,观察药剂处理后家蚕在不同时间的中毒症状,高浓度处理组家蚕出现取食减少,中毒症状表现为头部摇摆、吐水等症

状,死亡家蚕头部肿大,身体扭曲变软,呈“U”形。70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对家蚕的毒性试验结果如表 3 所示,结果表明,该药剂对家蚕的急性毒性 4 d-LC₅₀ 为 0.0588 mg a.i.·L⁻¹。依据农药对家蚕的急性毒性等级划分标准,该药剂对家蚕急性毒性为“剧毒”。

2.3 蚯蚓急性毒性

试验期间,对照组和处理组蚯蚓均无死亡,蚯蚓体表光滑,活动正常,处理组供试蚯蚓无明显中毒症状。70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对蚯蚓的毒性试验结果如表 4 所示,结果表明,该药剂对蚯蚓急性毒性 14 d-LC₅₀>100 mg a.i.·kg⁻¹ (以单位土壤干质量计),依据农药对蚯蚓的急性毒性等级划分标准,该药剂对蚯蚓急性毒性为“低毒”。

表 2 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对日本鹌鹑急性经口毒性试验结果
Table 2 Acute oral toxicity of 70% chlorantraniliprole WG to *Coturnix coturnix*

试验剂量/ (mg a.i.·kg ⁻¹)(以单位体质量计) Test dosage/ (mg a.i.·kg ⁻¹)(Based on body mass)	供试数 Total number	死亡数 Number of deaths				7 d 校正死亡率/% 7 d adjusted mortality rate/%
		1 d	2 d	4 d	7 d	
CK	10	0	0	0	0	0
2 000	10	0	0	0	0	0

注:WG 为水分散粒剂;下同。
Note: WG is water dispersible granule; the same below.

表 3 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对家蚕急性经口毒性试验结果
Table 3 Acute oral toxicity of 70% chlorantraniliprole WG to *Bombyx mori* L.

试验剂量/(mg a.i.·L ⁻¹) Test dosage/(mg a.i.·L ⁻¹)	供试数 Total number	死亡数 Number of deaths				4 d 校正死亡率/% 4 d adjusted mortality rate/%
		1 d	2 d	3 d	4 d	
CK	60	0	0	0	0	0
0.0296	60	3	5	7	7	11.7
0.0444	60	14	15	19	19	31.7
0.0667	60	21	27	35	35	58.3
0.100	60	33	44	48	48	80.0
0.150	60	42	53	58	58	96.7

表 4 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对蚯蚓急性经口毒性试验结果
Table 4 Acute oral toxicity of 70% chlorantraniliprole WG to *Eisenia fetida*

试验剂量/ (mg a.i.·kg ⁻¹)(以单位土壤质量计) Test dosage/ (mg a.i.·kg ⁻¹)(Based on soil dry mass)	供试数 Total number	死亡数 Number of deaths		14 d 校正死亡率/% 14 d adjusted mortality rate/%
		7 d	14 d	
CK	30	0	0	0
100	30	0	0	0

2.4 蜜蜂急性毒性

蜜蜂急性经口试验中处理组蜜蜂染毒 6 h,高浓度处理组有少量药液沉淀剩余。试验期间,对照组无蜜蜂死亡,药后蜜蜂出现行走不稳,侧躺挣扎等症状,死亡蜜蜂出现双翅展开,身体蜷缩等现象,70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对蜜蜂的急性经口毒性试验结果如表 5 所示,结果表明,该药剂对蜜蜂的急性经口毒性 2 d-LD₅₀ 为 133 μg a.i.·蜂⁻¹。蜜蜂急性接触试验中对照组无蜜蜂死亡,处理组蜜蜂染毒后,出现活动迟缓,精神萎靡等症状,死亡蜜蜂出现双翅展开,蜷缩发黑等现象,70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对蜜蜂的急性接触毒性试验结果如表 6 所示,结果表明,该药剂对蜜蜂的急性接触毒性 2 d-LD₅₀ 为 77.3 μg a.i.·蜂⁻¹。依据农药对蜜蜂急性经口/接触毒性等级划分标准,该药剂对蜜蜂急性经口和接触毒性均为“低毒”。

2.5 七星瓢虫急性毒性

试验期间,对照组瓢虫死亡率为 3.33%,处理组瓢虫表现不活跃或静止状态,死亡瓢虫挺直不动或

蜷缩,虫体干瘪,体型缩小,各处理组存活瓢虫在药后第 8 天完成化蛹,第 15 天完成羽化。70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对七星瓢虫的急性接触毒性试验结果如表 7 所示,结果表明,该药剂对七星瓢虫急性接触毒性 15 d-LR₅₀ 为 37.3 g a.i.·hm⁻²,该药剂在田间最大推荐使用剂量为 31.5 g a.i.·hm⁻²,计算安全系数为 1.18。依据农药对瓢虫的急性接触毒性等级划分标准,该药剂对瓢虫的风险性为“中等风险”。

2.6 斑马鱼急性毒性

试验期间,对照组无斑马鱼死亡,处理组斑马鱼染毒后,出现游动缓慢、侧翻等症状,70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对斑马鱼的急性毒性试验结果如表 8 所示,结果表明,以实测浓度计算该药剂对斑马鱼毒性 4 d-LC₅₀ 为 10.2 mg a.i.·L⁻¹,根据农药对鱼类的急性毒性等级划分标准,该药剂对斑马鱼的急性毒性为“低毒”。

70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对 6 种环境生物的急性数据分析结果具体如表 9 所示。

表 5 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对蜜蜂急性经口毒性试验结果
Table 5 Acute oral toxicity of 70% chlorantraniliprole WG to *Apis mellifera* L.

理论剂量/ (μg a.i.·蜂 ⁻¹) Theoretical concentration/ (μg a.i.·bee ⁻¹)	实际剂量 (μg a.i.·蜂 ⁻¹) Actual concentration (μg a.i.·bee ⁻¹)	供试数 Total number	死亡数 Number of deaths		2 d 校正死亡率/% 2 d adjusted mortality rate/%
			1 d	2 d	
CK	/	30	0	0	0
37.5	6.24	30	2	2	6.67
75.0	74.7	30	7	8	26.7
150	149	30	15	16	53.3
300	297	30	22	23	76.7
600	573	30	28	29	96.7

表 6 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对蜜蜂急性接触毒性试验结果
Table 6 Acute contact toxicity of 70% chlorantraniliprole WG to *Apis mellifera* L.

试验剂量/(μg a.i.·蜂 ⁻¹) Test dosage/(μg a.i.·bee ⁻¹)	供试数 Total number	死亡数 Number of deaths		2 d 校正死亡率/% 2 d adjusted mortality rate/%
		1 d	2 d	
CK	30	0	0	0
丙酮 Acetone	30	0	0	0
29.6	30	2	2	6.67
44.4	30	8	9	30.0
66.7	30	13	13	43.3
100	30	16	17	56.7
150	30	24	25	83.3

表 7 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对七星瓢虫急性接触毒性试验结果

Table 7 Acute contact toxicity of 70% chlorantraniliprole WG to *Coccinella septempunctata*

试验剂量/(g a.i.·hm ⁻²) Test dosage/(g a.i.·hm ⁻²)	供试数 Total number	死亡数 Number of deaths				15 d 校正死亡率/% 15 d adjusted mortality rate/%
		1 d	2 d	8 d	15 d	
CK	30	0	0	1	1	0
17.8	30	0	2	2	3	6.90
26.7	30	0	5	7	8	24.1
40.0	30	2	8	16	17	55.2
60.0	30	11	15	22	24	79.3
90.0	30	14	29	30	30	100

表 8 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对斑马鱼急性毒性试验结果

Table 8 Acute oral toxicity of 70% chlorantraniliprole WG to *Brachydanio rerio*

理论浓度/ (mg a.i.·L ⁻¹) Nominal concentration/ (mg a.i.·L ⁻¹)	96 h-实测浓度 (mg a.i.·L ⁻¹) 96 h-measured concentration (mg a.i.·L ⁻¹)	供试数 Total number	死亡数 Number of deaths				4 d 校正死亡率/% 4 d adjusted mortality rate
			1 d	2 d	3 d	4 d	
CK	/	10	0	0	0	0	0
92.0	6.60	10	0	0	0	0	0
106	8.43	10	0	1	2	2	20.0
122	10.1	10	2	3	4	4	40.0
140	10.6	10	3	5	7	7	70.0
161	13.5	10	6	8	9	9	90.0

表 9 70% 氯虫苯甲酰胺水分散粒剂对 6 种环境生物的急性数据分析

Table 9 Results of acute toxicity test of 70% chlorantraniliprole WG to six environmental organisms

试验项目 Test projects	处理时间/d Time/d	回归方程 Regression equation	致死中浓度(剂量) Lethal concentration (medium)	95% 置信区间 95% C. L.	毒性等级 Toxicity grade
鹌鹑 <i>Coturnix japonica</i>	7	/	>2 000 mg a.i.·kg ⁻¹ (以单位体质量计 Based on body mass)	/	低毒 Low toxicity
家蚕 <i>Bombyx mori</i> L.	4	y=4.059x+4.996	0.0588 mg a.i.·L ⁻¹	0.0545 ~ 0.0633 mg a.i.·L ⁻¹	剧毒 Extreme toxicity
蚯蚓 <i>Eisenia fetida</i>	14	/	>100 mg a.i.·kg ⁻¹ (以单位土壤干质量计 Based on dry soil mass)	/	低毒 Low toxicity
蜜蜂经口 Oral of <i>Apis mellifera</i> L.	2	y=2.200x-4.676	133 μg a.i.·蜂 ⁻¹ 133 μg a.i.·bee ⁻¹	103 ~ 171 μg a.i.·蜂 ⁻¹ 103 ~ 171 μg a.i.·bee ⁻¹	低毒 Low toxicity
蜜蜂接触 Contact of <i>Apis mellifera</i> L.	2	y=3.040x-5.741	77.3 μg a.i.·蜂 ⁻¹ 77.3 μg a.i.·bee ⁻¹	65.2 ~ 93.7 μg a.i.·蜂 ⁻¹ 65.2 ~ 93.7 μg a.i.·bee ⁻¹	低毒 Low toxicity
七星瓢虫 <i>Coccinella septempunctata</i>	15	y=4.891x-7.690	37.3 g a.i.·hm ⁻²	32.2 ~ 43.3 g a.i.·hm ⁻²	中毒 Medium risk
斑马鱼 <i>Brachydanio rerio</i>	4	y=11.701x-11.779	10.2 mg a.i.·L ⁻¹	9.22 ~ 11.2 mg a.i.·L ⁻¹	低毒 Low toxicity

3 讨论(Discussion)

本研究通过测定 70% 氯虫苯甲酰胺水分散剂对环境生物日本鹌鹑、家蚕、蚯蚓、蜜蜂、七星瓢虫和斑马鱼的急性毒性,评价其对环境生物安全性。结果显示,该制剂对环境生物鸟、蚯蚓、蜜蜂和斑马鱼的急性毒性等级均为低毒,对家蚕为剧毒,对天敌瓢虫属中风险。因此,在田间使用时,应避免在蚕室和桑园附近使用,延长药后桑叶采摘间隔期,同时为充分发挥天敌昆虫生物防治的控害潜能,应避免在天敌昆虫放飞区及繁育期使用。

评价农药对环境生物的安全性不仅要根据急性毒性终点值的大小,还要考虑其对环境生物是否具有潜在的慢性毒性。氯虫苯甲酰胺对鸟类急性和短期毒性风险较低,但对慢性毒性风险较高,急慢性比高达 223^[9],推断氯虫苯甲酰胺可能对鸟类繁殖具有潜在风险。关于氯虫苯甲酰胺对蚯蚓急性毒性和慢性毒性均很低,但 Liu 等^[18]研究发现蚯蚓暴露在含有氯虫苯甲酰胺的土壤中 42 d(土壤中降解<20%),蚯蚓体内氯虫苯甲酰胺含量随着暴露时间的延长而累积,当氯虫苯甲酰胺含量高于 5.0 mg·kg⁻¹时,会诱导细胞产生过量的氧化自由基,导致体内生物大分子氧化损伤,抑制蚯蚓的生长和繁殖。同样,Zhang 等^[19]和刘修园等^[20]发现对蚯蚓低毒的溴氰虫酰胺和氟苯虫酰胺也能够诱发蚯蚓体内的氧化胁迫,导致细胞和 DNA 损伤,可见,酰胺类杀虫剂虽然对无脊椎动物短期内毒性较低,但会产生持久性危害。氯虫苯甲酰胺原药对蜜蜂经口毒性较低,但对蜜蜂接触毒性可能较高。Dinter 等^[21]通过半田间试验研究了蜜蜂取食花粉过程中喷洒氯虫苯甲酰胺对其影响,结果表明氯虫苯甲酰胺对蜜蜂影响较小,安全性高。氯虫苯甲酰胺原药对斑马鱼急性毒性为低毒,生物富集因子(BCF)为 15,清除 50% 的时间(CT₅₀)为 1.5 d^[9],表明暴露于氯虫苯甲酰胺后对鱼类产生的潜在风险很低。宋玥颐^[22]、Venkata 和 Rathnamma^[23]等在慢性毒性研究中发现氯虫苯甲酰胺会导致斑马鱼肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性以及丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)含量发生显著改变,肝脏中出现明显的氧化应激反应,出现了一定程度的肿胀和空泡^[22]。关于氯虫苯甲酰胺原药对七星瓢虫和家蚕的毒性终点国外目前还没有相关报道。池艳艳等^[24]研究发现亚致死剂量的氯虫苯甲酰胺会抑制家蚕生长,影响变态发育,导致蚕茧和茧丝的质

量下降。考虑到氯虫苯甲酰胺防治对象以鳞翅目害虫为主,家蚕对氯虫苯甲酰胺十分敏感,在常规推荐用量下,不可避免地会对蚕业生产造成极大威胁,因此,在蚕室及桑园附近避免使用该类农药。Nawaz 等^[25]研究发现氯虫苯甲酰胺对异色瓢虫 2 龄幼虫的 LC₅₀ 值为 36.67 mg a.i.·L⁻¹,亚致死剂量下能显著延长瓢虫发育历期,抑制蛹及成虫体质量、成虫寿命和繁殖力下降,本研究中氯虫苯甲酰胺对七星瓢虫 2 龄幼虫的 LC₅₀ 值为 37.3 g a.i.·hm⁻²,接近于推荐剂量,表明氯虫苯甲酰胺对鞘翅目瓢虫具有一定的风险。

氯虫苯甲酰胺对昆虫与其他生物间具有优异的选择毒性,主要原因是昆虫与哺乳动物、鸟类、蜜蜂和鱼类等生物鱼尼丁受体(RyR)存在差异。对比昆虫 RyR 与哺乳动物的 RyR 发现同源性很低,而不同昆虫物种间 RyR 具有高同源性^[26]。研究发现,双酰胺类杀虫剂对鳞翅目昆虫的敏感性与昆虫 RyR 的局部结构域(N-末端结构域、Repeat34 结构域和 SPRY2 结构域)密切相关^[27-29]。Kato 等^[27]通过置换兔 RyR2 和蚕 RyR 的 N-末端序列,揭示了 N-末端是 RyR 对氟苯虫酰胺敏感的结构基础。Xu 和 Yuchi^[28]通过研究小菜蛾 RyR 的 Repeat34 结构域发现该结构域的磷酸化位置附近比哺乳动物多出一个 α-螺旋结构,表明 Repeat34 很可能是 RyR 上的选择性靶标。Zhou 等^[29]解析小菜蛾 RyR 的 SPRY2 区域,发现该结构域与 BSol 结构域之间的界面对 Ca²⁺通道的变构有重要作用,说明药剂可能通过 SPRY2 结构域控制 Ca²⁺的释放。

综上所述,氯虫苯甲酰胺对环境生物具有较好的选择性,考虑到长期暴露或反复暴露对环境生物的影响,该类药剂对环境生物仍存在潜在风险,因此,关于氯虫苯甲酰胺对人及环境生物风险可结合农药在环境中的暴露程度进行全面风险评估及开展高级阶段毒性效应研究。

通信作者简介:吴培(1969—),女,硕士,研究员,主要研究方向为农药分析检测与管理。

共同通信作者简介:于伟丽(1985—),女,硕士,助理研究员,主要研究方向为农药环境毒理学。

参考文献(References):

- [1] 张兆志. 化学农药安全绿色发展探究[J]. 广东蚕业, 2021, 55(2): 36-37

- Zhang Z Z. The green development of chemical pesticide safety [J]. *Guangdong Sericulture*, 2021, 55(2): 36-37 (in Chinese)
- [2] Li Y X, Mao M Z, Li Y M, et al. Modulations of high-voltage activated Ca^{2+} channels in the central neurones of *Spodoptera exigua* by chlorantraniliprole [J]. *Physiological Entomology*, 2011, 36(3): 230-234
- [3] Muthusamy R, Vishnupriya M, Shivakumar M S. Biochemical mechanism of chlorantraniliprole resistance in *Spodoptera litura* (Fab) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2014, 17(4): 865-869
- [4] Hannig G T, Ziegler M, Marçon P G. Feeding cessation effects of chlorantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, in comparison with several insecticides in distinct chemical classes and mode-of-action groups [J]. *Pest Management Science*, 2009, 65(9): 969-974
- [5] 陈朗, 袁善奎, 姜辉, 等. 双酰胺类杀虫剂环境风险问题浅析[J]. *农药科学与管理*, 2019, 40(3): 19-26
- Chen L, Yuan S K, Jiang H, et al. A brief analysis on the environmental risk of diamide insecticides [J]. *Pesticide Science and Administration*, 2019, 40(3): 19-26 (in Chinese)
- [6] 陈鹏, 柏亚罗. 双酰胺类杀虫剂的研发概况及在中国的登记情况[J]. *世界农药*, 2021, 43(3): 22-34
- Chen J, Bai Y L. Overview on R & D of diamide insecticides and their registrations in China [J]. *World Pesticide*, 2021, 43(3): 22-34 (in Chinese)
- [7] Liu X, Wang H Y, Ning Y B, et al. Resistance selection and characterization of chlorantraniliprole resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2015, 108(4): 1978-1985
- [8] Liu Y Q, Gao Y, Liang G M, et al. Chlorantraniliprole as a candidate pesticide used in combination with the attractants for lepidopteran moths [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0180255
- [9] European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance chlorantraniliprole [J]. *EFSA Journal*, 2013, 11(6): 3143
- [10] Chen J, Lu Z T, Li M X, et al. The mechanism of sublethal chlorantraniliprole exposure causing silkworm pupation metamorphosis defects [J]. *Pest Management Science*, 2020, 76(8): 2838-2845
- [11] Naiara Gomes I, Ingrid Castelan Vieira K, Moreira Gontijo L, et al. Honeybee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil [J]. *Ecotoxicology*, 2020, 29(1): 97-107
- [12] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 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
- [13] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 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
- [14] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 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, 2015
- [15] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 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, 2015
- [16] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 化学农药环境安全评价试验准则 第7部分: 生物富集试验: GB/T 31270.7—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015
- [17] 中华人民共和国农业部. 化学农药 天敌(瓢虫)急性接触毒性试验准则: NY/T 3088—2017[S]. 北京: 中国农业出版社, 2017
- [18] Liu T, Wang X G, Chen D, et al. Growth, reproduction and biochemical toxicity of chlorantraniliprole in soil on earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 150: 18-25
- [19] Zhang X L, Wang X G, Liu Y L, et al. Residue and toxicity of cyantraniliprole and its main metabolite J9Z38 in soil-earthworm microcosms [J]. *Chemosphere*, 2020, 249: 126479
- [20] 刘修园, 赵海刚, 陈志厚, 等. 氟虫双酰胺对蚯蚓的生化毒性与细胞毒性研究[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(4): 293-301
- Liu X Y, Zhao H G, Chen Z H, et al. Biochemical toxicity and cytotoxicity of flubendiamide on earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(4): 293-301 (in Chinese)
- [21] Dinter A, Brugger K E, Frost N M, et al. Chlorantraniliprole (Rynaxypyr): A novel DuPont™ insecticide with low toxicity and low risk for honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus terrestris*) providing excellent tools for uses in integrated pest management [J]. *Julius-Kühn-Archiv*, 2009, 423: 84-96
- [22] 宋玥颐. 氟虫苯甲酰胺和氟苯虫酰胺在斑马鱼体内的富集和毒性效应研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2020: 80
- Song Y Y. Bioaccumulation and toxic effects of chlorantraniliprole and flubendiamide in zebrafish (*Danio rerio*) [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020: 80 (in Chinese)

- nese)
- [23] Venkata V, Rathnamma V V. Acute toxicity and histopathological changes in freshwater fish *Cirrhinus mrigala* exposed to chlorantraniliprole [J]. The Journal of Zoology Studies, 2014, 4(1): 23-30
- [24] 池艳艳, 乔康, 姜辉, 等. 氯虫苯甲酰胺对家蚕的毒性与安全性评价[J]. 蚕业科学, 2014, 40(4): 694-698
- Chi Y Y, Qiao K, Jiang H, et al. Toxicity and safety evaluation of chlorantraniliprole to the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Science of Sericulture, 2014, 40(4): 694-698 (in Chinese)
- [25] Nawaz M, Cai W L, Jing Z, et al. Toxicity and sublethal effects of chlorantraniliprole on the development and fecundity of a non-specific predator, the multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis* (Pallas) [J]. Chemosphere, 2017, 178: 496-503
- [26] 殷畅, 毕莹莹, 韩丽君, 等. 双酰胺类杀虫剂作用机制及其先导优化研究进展[J]. 世界农药, 2021, 43(2): 15-33
- Yin C, Bi YY, Han L J, et al. Research progress on action mechanism and lead optimization of diamide insecticides [J]. World Pesticides, 2021, 43(2): 15-33 (in Chinese)
- [27] Kato K, Kiyonaka S, Sawaguchi Y, et al. Molecular characterization of flubendiamide sensitivity in the lepidopterous ryanodine receptor Ca^{2+} release channel [J]. Biochemistry, 2009, 48(43): 10342-10352
- [28] Xu T, Yuchi Z. Crystal structure of diamondback moth ryanodine receptor Repeat34 domain reveals insect-specific phosphorylation sites [J]. BMC Biology, 2019, 17(1): 77
- [29] Zhou Y Y, Ma D, Lin L Y, et al. Crystal structure of the ryanodine receptor SPRY2 domain from the diamondback moth provides insights into the development of novel insecticides [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(6): 1731-1740 ◆