



张宝兰, 何海坚, 陈翠群, 等. 茚虫威对意大利蜜蜂毒性研究 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (4): 950–954.

茚虫威对意大利蜜蜂毒性研究

张宝兰^{1,2}, 何海坚^{1,2}, 陈翠群^{1,2}, 张宏涛^{1,2*}

(1. 佛山市环境健康与安全评价研究中心, 佛山 528000; 2. 广东中科英海科技有限公司, 佛山 528000)

摘要: 通过单次饲喂高浓度茚虫威药液以及连续饲喂亚致死浓度茚虫威药液进行染毒, 记录和分析急性慢性经口毒性试验中, 意大利蜜蜂的中毒症状和死亡情况; 测定慢性毒性试验中意大利蜜蜂每天药液消耗量, 并计算危害商值进行初步风险评价。结果表明, 98% 茚虫威原药对意大利蜜蜂的半致死剂量 48 h-LD₅₀ 为 0.399 $\mu\text{g a. i. /bee}$, 每日半数致死剂量 240 h-LDD₅₀ 为 0.0233 $\mu\text{g a. i. /bee/day}$, 其中慢性毒性试验中 1.66 mg a. i. /L 处理组的意大利蜜蜂死亡率在 144 h 之后呈现显著性的增加, 240 h 达到 70%, 且该处理组意大利蜜蜂的摄食量为 17.6 μL , 少于对照组和其他处理组。此外, 茚虫威根据目前推荐使用剂量计算出的危害商值基本大于 50。茚虫威对意大利蜜蜂急性毒性 (48 h) 是高毒, 存在较高的风险; 亚致死浓度在 144 h 后会对意大利蜜蜂造成较大的威胁。

关键词: 意大利蜜蜂; 茚虫威; 急性毒性试验; 慢性毒性试验; 风险评估

中图分类号: Q965.9; S481

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2017) 04-0950-05

The toxicity of indoxacarb on honeybee (*Apis mellifera* L.)

ZHANG Bao-Lan^{1,2}, HE Hai-Jian^{1,2}, CHEN Cui-Qun^{1,2}, ZHANG Hong-Tao^{1,2*} (1. Foshan Center for Environmental Health & Safety Assessment, Foshan 528000, Guangdong Province, China; 2. Guangdong Enhealth Science and Technology Ltd, Foshan 528000, Guangdong Province, China)

Abstract: The purpose of this research was to study the toxicity effects of indoxacarb on honeybee (*Apis mellifera* L.). Toxicity symptoms and mortality of the honeybee (*Apis mellifera* L.) were analyzed by single dose feeding of a high concentration with the acute oral toxicity test, and continuous feeding of indoxacarb in the chronic toxicity test. The daily consumption of the honeybee was measured in the chronic toxicity test, and the hazard quotient was calculated for the Preliminary Risk Assessing. The 48 h-LD₅₀ of indoxacarb of honeybee was 0.399 $\mu\text{g a. i. /bee}$ and the 240 h-LDD₅₀ was 0.0233 $\mu\text{g a. i. /bee/day}$. The honeybee mortality of 1.66 mg a. i. /L treatment in the chronic toxicity test increased significantly after 144 h and reached to 70% at 240 h. The food consumed by honeybee of this treatment was 17.6 μL , which was less than the controls and the other treatments. In addition, the hazard quotient calculated by indoxacarb according to the recommended dose was more than 50 basically. The acute toxicity of indoxacarb on honeybee was high, which was harmful to honeybee, and the higher sublethal concentrations of indoxacarb were threaten to honeybee after 144 h.

Key words: *Apis mellifera*; indoxacarb; the acute toxicity test; the chronic toxicity test; risk Assessment

蜜蜂与植物协调进化, 互利共生, 是生态系统中重要的一环, 维持着生物圈中的物种多样性、基因多样性和生态系统多样性 (李志勇等,

2014)。Nature 在 2006 年公布蜜蜂基因组的测序和分析结果时, 甚至指出“如果没有蜜蜂及其传粉行为, 整个生态系统将会崩溃”(ERIKAC, 2006)。

基金项目: 广东省科技计划项目 (2015A030401002)

作者简介: 张宝兰, 女, 1983 年生, 广东开平人, 硕士研究生, 环境评价工程师, 研究方向为环境毒理, E-mail: zhbaolan@126.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: zhanght218@163.com

收稿日期 Received: 2017-01-19; 接受日期 Accepted: 2017-05-12

近年来, 农药的不合理使用, 致使蜜蜂栖息地的生态环境和食物源受到了严重威胁, 蜜蜂农药中毒及蜂群数量大幅度减少等现象已成为了全球普遍重视的生物安全问题 (卜元卿等, 2009)。为控制高风险农药对蜜蜂及生态环境造成的潜在危害, 经济合作与发展组织 (OECD, 1998; OECD, 2005)、欧盟-地中海植物保护组织 (EPPO, 2000) 和欧洲食品安全局 (EFSA, 2013) 都相继制定农药对蜜蜂的生物毒性测定及评价标准。我国的农业部也将农药对蜜蜂毒性测定纳入农药登记管理中 (SAC, 2014)。

茚虫威 (indoxacarb) 是美国杜邦公司开发的新型二嗪类杀虫剂, 已在美国、澳大利亚、中国等国作为“降低风险产品” (reduced-risk product) 登记注册, 其主要用于棉花、果树、蔬菜和林木等作物, 能有效防治鳞翅目害虫等, 且对半翅目及蜚类也十分有效 (Wing *et al.*, 2000)。目前国内外茚虫威对蜜蜂的毒性影响研究仅在室内急性毒性 (俞瑞鲜等, 2009) 和室外蜂群影响方面 (Jozef and Axel, 2007; Kimberly and Brian, 2013), 鲜有室内慢性毒性的测定与评价。本文研究了茚虫威对蜜蜂 48 h 急性经口毒性及 240 h 慢性经口毒性, 旨在了解蜜蜂在短期及长期接触茚虫威后的毒性效应, 以评估农药对蜜蜂的风险和潜在风险, 从而为安全用药提供依据参考。

1 材料与方法

1.1 供试农药

94% 茚虫威原药, 山西绿海农药科技有限公司提供。

1.2 试验昆虫及试验蜂笼

意大利蜜蜂 *Apis mellifera*, 来自佛山市三水区西南街蜜蜂养殖场。急性毒性试验采用成年工蜂, 试验前 2 h 禁食; 慢性毒性试验采用同时期刚出脾 3-4 d 的幼年工蜂。

试验蜂笼, 规格为 10 cm × 10 cm × 10 cm, 其中四面为不锈钢网, 一面为透明观察面, 一面为有机玻璃板, 板上有饲喂孔 (专利号为 ZL 2016 2 0059170.1)。

1.3 急性毒性试验方法

供试物用 50% 蔗糖溶液配成以下浓度: 7.04 mg a. i. /L、12.00 mg a. i. /L、20.40 mg a. i. /L、34.60 mg a. i. /L、58.80 mg a. i. /L、100.00 mg a. i. /L

和 170.00 mg a. i. /L, 按 100 μ L/笼的给药量饲喂蜜蜂, 待蜜蜂摄食完, 换上不含供试物的 50% 蔗糖溶液, 每笼 10 头蜜蜂, 3 个重复。在温度为 25℃ ± 2℃、相对湿度为 50% - 70% 的微光环境下进行, 记录 24 h 和 48 h 的中毒症状和死亡情况 (SAC, 2014)。

1.4 慢性毒性试验方法

供试物用 50% 蔗糖溶液配成以下浓度: 0.052 mg a. i. /L、0.104 mg a. i. /L、0.208 mg a. i. /L、0.415 mg a. i. /L、0.830 mg a. i. /L 和 1.660 mg a. i. /L, 按 800 μ L/笼/天的给药量饲喂蜜蜂, 每笼 20 头蜜蜂, 3 个重复。在温度为 30℃ ± 2℃、相对湿度为 50% - 70% 的微光环境下进行, 连续饲喂 10 d, 每天测定试验液的消耗量和观察蜜蜂的中毒症状和死亡情况 (EFSA, 2013)。

1.5 数据分析

采用 SPSS 22.0 统计软件计算 LD₅₀、LDD₅₀ 及其 95% 置信限和相应的毒力回归方程。采用方差分析对各试验组与对照组间进行差异显著性分析。

1.6 风险评估

危害商值 (Hazard Quotients, HQ) 可用于农药对蜜蜂风险的初步评价, 计算公式为 HQ = AR/LD₅₀。若 HQ < 50, 认为该农药对蜜蜂风险低, 反之, 则存在较高风险 (EPPO, 2000; 赵怡楠等, 2014)。

2 结果与分析

2.1 茚虫威对蜜蜂急性、慢性试验的毒性分析

根据急性毒性试验结果, 设计慢性毒性试验的最高剂量为 48 h-LD₅₀ 的 1/6。

茚虫威对蜜蜂的急性、慢性试验毒性症状均表现为运动不协调、翅部震颤、足部痉挛和拒食。

48 h-LD₅₀ 为 0.399 μ g a. i. /bee, 根据《化学农药环境安全评价试验准则》蜜蜂急性经口毒性试验的毒性评价等级: 0.001 μ g a. i. /bee < LD₅₀ ≤ 2.0 μ g a. i. /bee, 说明茚虫威对蜜蜂属于高毒农药; 另外, 随时间延长, LD₅₀ 由 0.585 μ g a. i. /bee (24 h) 减少为 0.399 μ g a. i. /bee (48 h), 说明茚虫威对蜜蜂具有延迟效应, 一次给药后, 24 h 和 48 h 均有毒性反应。而慢性毒性试验的 240 h-LDD₅₀ 为 0.0233 μ g a. i. /bee/day, 不到 48 h-LD₅₀ 的 1/10, 说明这种长期少量的中毒对蜜蜂的影响也是不容忽视 (表 1)。

表 1 茚虫威对蜜蜂急性慢性毒性结果

Table 1 The acute and chronic toxicity results of indoxacarb on honeybee

试验类型 Test type	试验周期 (h) Time	毒力回归方程 Toxicity regression equations	半数致死剂量/每日半数致死剂量 ($\mu\text{g a.i./bee}$) / ($\mu\text{g a.i./bee/day}$) $\text{LD}_{50}/\text{LDD}_{50}$	95% 置信限 ($\mu\text{g a.i./bee}$) 95% CL	P 值 P Value	毒性等级 Toxicity grade
急性毒性试验 Acute toxicity test	24	$y = 0.524 + 2.254x$	0.585	0.474 - 0.741	0.625	高毒 High toxicity
	48	$y = 0.988 + 2.475x$	0.399	0.327 - 0.489	0.694	
慢性毒性试验 Chronic toxicity test	240	$y = 4.390 + 2.689x$	0.0233	0.0166 - 0.0435	0.081	-

急性毒性试验中各处理组蜜蜂死亡率在 24 h 至 48 h 有所增加, 且慢性毒性试验中各处理组蜜蜂死亡率在 144 h 前均小于 10%, 而 144 h 后

0.830 mg a.i./L 和 1.660 mg a.i./L 处理组蜜蜂死亡率大幅度增加, 说明茚虫威农药会在蜜蜂体内蓄积从而产生累积效应 (图 1)。

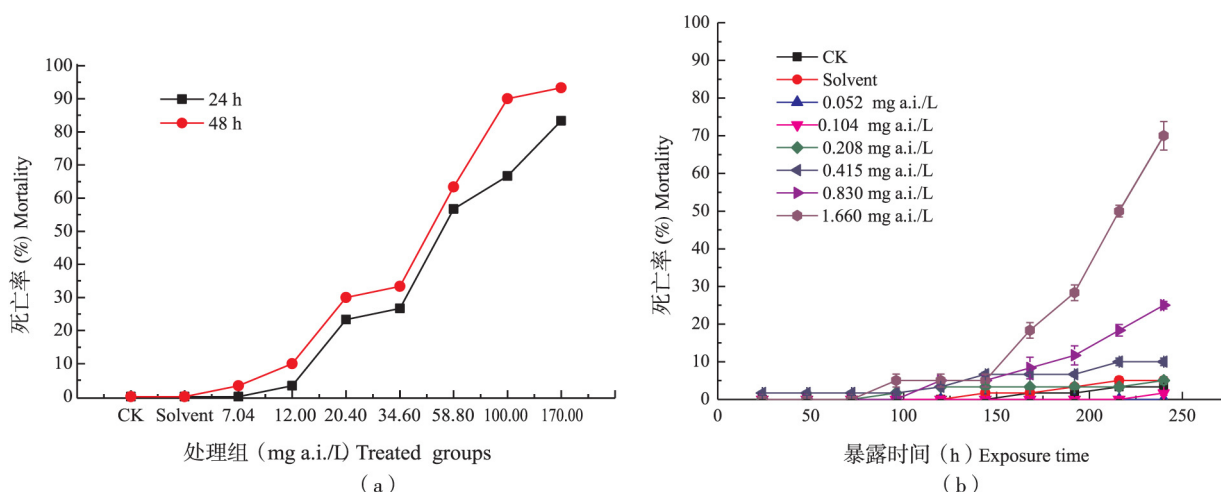


图 1 茚虫威对蜜蜂急性 (a)、慢性 (b) 试验的毒性结果

Fig. 1 The acute (a) and chronic (b) toxicity results of indoxacarb on honeybee

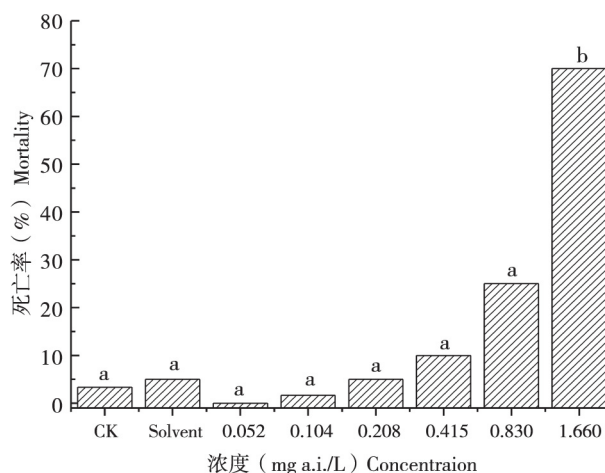
蜜蜂慢性毒性试验中, 各处理组死亡率随着浓度的增加而上升, 其中最高浓度 1.660 mg a.i./L 处理组死亡率达到 70%, 与对照组之间有显著性差异 ($P < 0.05$) (图 2)。

2.2 亚致死浓度茚虫威对蜜蜂摄食量影响

0.052 mg a.i./L - 0.208 mg a.i./L 浓度组的消耗量比对照组稍有增加, 但 0.415 mg a.i./L - 1.660 mg a.i./L 浓度组却明显减少, 尤其 1.660 mg a.i./L 浓度组的摄食量仅为 17.6 μL , 而随着浓度的增加, 其对应的蜜蜂存活率大大减少也进一步说明了茚虫威对蜜蜂的毒性作用增强 (图 3)。

2.3 茚虫威对蜜蜂的初步风险评估

通过查阅目前世界范围内以及我国各区域施用茚虫威的推荐使用剂量 (刘长令, 2003), 计算对蜜蜂的危害商值, 不同区域施用茚虫威对蜜蜂

图 2 慢性毒性试验中不同浓度茚虫威处理组蜜蜂死亡情况
Fig. 2 The mortality of honeybees in different concentrations of indoxacarb in chronic toxicity test

注: 不同字母表示在 0.05 水平差异显著。Note: The different letters mean significantly different at 5% level.

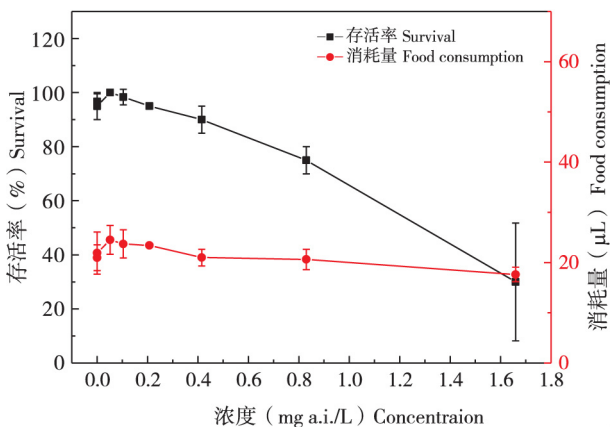


图3 不同浓度茚虫威对蜜蜂存活率及消耗量的影响
Fig. 3 The effects on honeybee's food consumption and weight with different concentrations of indoxacarb

的危害商值基本上都大于50(表2),这说明茚虫威的施用对于蜜蜂的生存具有较大的潜在威胁。

表2 茚虫威推荐施用剂量以及对蜜蜂的危害商值

Table 2 The recommended dose of indoxacarb and the hazard quotients on honeybee

地域施用对象 Object		推荐剂量 (g a. i. /hm ²) AR	LD ₅₀ (μg a. i. /bee)	危害商值 HQ
世界	蔬菜 vegetable	28-74	0.399	70.18-185.46
World	果树 Fruit tree	28-125		70.18-313.28
中国	菜虫、小夜蛾	19.5-39		48.87-97.74
China	Cabbage worm, The little moth			

影响。慢性毒性试验结果表明,低于急性毒性试验浓度的茚虫威处理组在前144 h死亡率较低,但在144 h后,各处理组蜜蜂死亡率大幅度增加,尤其1.660 mg a. i. /L处理组($P<0.05$)。这说明低浓度茚虫威在短期内对蜜蜂产生亚致死效应,而144 h到240 h,可能由于剂量累积速率大于体内降解速率,剂量累积到一定水平后,产生了较高的毒性。而且从急性经口毒性试验24 h和48 h结果也可看出,茚虫威对蜜蜂毒力的影响时间较为持久。

慢性毒性试验结果表明经低浓度茚虫威处理后,蜜蜂表现出过多取食现象,而较高浓度处理组的蜜蜂则出现运动不协调、翅部震颤、足部痉挛和少食等症状,这可能是低浓度的茚虫威会促使蜜蜂通过增加食物的消耗来恢复损伤,而高浓度则直接造成不可恢复的损伤,且这些损伤与茚虫威的作用机理相吻合(王建军和董刚红,2009)。因此,蜜蜂长期(144 h以上)接触亚致

3 结论与讨论

本研究表明茚虫威对蜜蜂急性经口毒性为高毒,这结果与研究报道类似(俞瑞鲜等,2009)。且根据目前通用的推荐施用剂量,发现HQ基本上都大于50,说明茚虫威对蜜蜂存在较高的环境风险,不利于蜜蜂的生存、活动。因此,在施用该农药时应尽量避开蜜蜂栖息地,同时避免在蜜源植株花期时施用。

杀虫剂在环境中的毒力会随时间和状态会逐渐减小,到一定水平时就会转变为亚致死剂量(张珠凤,2001; Laurino *et al.*, 2011)。有研究表明,茚虫威属易降解农药,但其半衰期在作物中为6-7 d(彭筱和龚道新,2013),这意味着茚虫威施用后,随着时间推移,会对蜜蜂造成一定的

死浓度的茚虫威可能会造成蜜蜂生理、行为上的异常,重者会导致蜜蜂死亡,乃至蜂群数量的减少。

综上所述,农药对蜜蜂的生态风险评价,不仅要进行蜜蜂急性毒性测试与评估,还需考虑较低浓度农药对蜜蜂的亚致死效应评估以及毒性累积效应评估。目前国内外的蜜蜂急性毒性测试技术已制定成标准准则,但蜜蜂慢性毒性测试技术还处于探究摸索阶段。因此,现阶段亟需将蜜蜂慢性毒性测试技术成熟化、标准化。

参考文献 (References)

Bu YQ, Shan ZJ, Zhou JY, *et al.* Research review on biological toxicity and safety assessment of pesticides to honeybee [J]. *Pesticide*, 2009, 48 (6): 399-401. [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): 399-401]

EFSA (European Food Safety Authority). EFSA Guidance on the Risk Assessment of Plant Protection Products on Bees (*Apis mellifera*,

- Bombus* spp. and Solitary Bees [R]. EFSA Journal ,2013: 204 – 205.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) . EPPO Guidelines for the Efficacy Evaluation of Plant Protection Products ,No. 170: Side Effects on Honeybees [S]. IOBC/WPRS Bulletin ,2000: 51 – 55.
- Erika C. Pollinators in peril [J]. *Nature* ,2006 ,443: 893.
- Jozef JM , Axel D. A monitoring study to assess the acute mortality effects of indoxacarb on honeybees (*Apis mellifera* L.) in flowering apple orchards [J]. *Pest Management Science* ,2007 ,63 (11) : 1095 – 1099.
- Kimberly AS , Brian DE. Using a hazard quotient to evaluate pesticide residues detected in pollen trapped from honeybee (*Apis mellifera*) in connecticut [J]. *PLoS ONE* ,2013 ,10 (8) : 1 – 10.
- Laurino D , Porporato M , Patetta A , *et al.* Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: Laboratory [J]. *Bull. Insectol.* ,2011 , 64 (1) : 107 – 113.
- Li ZY , Wang Z , Niu QS , *et al.* Pesticides and the ecological security of bees [J]. *Apiculture of China* ,2014 ,65: 26 – 27. [李志勇 , 王志 , 牛庆生 , 等 . 农药与蜜蜂生态安全 [J]. 中国蜂业 , 2014 ,65: 26 – 27]
- Liu CL. The novel insecticide indoxacarb [J]. *Pesticide* , 2003 , 42 (2) : 42 – 44. [刘长令 . 新型高效杀虫剂茚虫威 [J]. 农药 ,2003 ,42 (2) : 42 – 44]
- OECD (Organization for Economic Co – operation and Development) . OECD Guidance for the Testing of Chemicals (Honeybees , Acute Oral Toxicity Test) [S]. OECD/OCED ,1998: 1 – 8.
- OECD (Organization for Economic Co – operation and Development) . OECD Guidance for Industry Data Submissions on Plant Protection Products and Their Active Substances (Revision 2) , Appendix 8 , Part 3 , Ecotoxicological Studies and Risk Assessment [S]. Paris , France: OECD ,2005: 1 – 29.
- Peng X , Gong DX. Residual dynamics of indoxacarb in paddy field [J]. *Pesticide* ,2013 ,52 (4) : 284 – 286. [彭筱 , 龚道新 . 茚虫威在水稻田中的消解动态 [J]. 农药 ,2013 ,52 (4) : 284 – 286]
- SAC. GB/T 31270. 10 – 2014. Test Guidelines on Environmental Safety Assessment for Chemical Pesticides – Part 10: Honeybee Acute Toxicity Test [S]. Beijing: Standards Press of China ,2014. [中国国家标准化管理委员会 . GB/T 31270. 10 – 2014. 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 [S]. 北京: 中国标准出版社 ,2014]
- Wang JJ , Dong HG. Advances in toxicology of the novel insecticide indoxacarb [J]. *Plant Protection* ,2009 ,35 (3) : 20 – 22. [王建军 , 董红刚 . 新型高效杀虫剂茚虫威毒理学研究进展 [J]. 植物保护 ,2009 ,35 (3) : 20 – 22]
- Wing KD , Sacher M , Kagaya Y , *et al.* Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects [J]. *Crop Protection* ,2000 , 19 (8 – 10) : 537 – 545.
- Yu RX , Zhao XP , Wu CX , *et al.* Evaluation of indoxacarb to environmental organisms [J]. *Pesticide* ,2009 ,48 (1) : 47 – 49. [俞瑞鲜 , 赵学平 , 吴长兴 , 等 . 茚虫威对环境生物的安全评价 [J]. 农药 ,2009 ,48 (1) : 47 – 49]
- Zhang ZF. Effect of sublethal doses of chemical pesticide on natural enemy of insect [J]. *Fujian Agricultural Science and Technology* , 2001 ,6: 29 – 30. [张珠凤 . 农药亚致死剂量对天敌昆虫的影响 [J]. 福建农业科技 ,2001 ,6: 29 – 30]
- Zhao YN , Gao JL , Wang YJ , *et al.* Study on acute toxicity and hazard assessment of avermectin and its mixtures on *Apis cerana hainan* [J]. *Journal of Environmental Entomology* ,2014 ,36 (5) : 744 – 748. [赵怡楠 , 高景林 , 王玉洁 , 等 . 阿维菌素及其混剂对海南中蜂的急性毒性测定及风险评估 [J]. 环境昆虫学报 , 2014 ,36 (5) : 744 – 748]