

· 植物保护 ·

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.20220035



主持人: 缪卫国

手性茚虫威对家蚕的急性毒性效应

赵文字, 张洁, 郑世祥, 汪心雨, 苏小婷, 范咏梅

(海南大学植物保护学院/热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室, 海口 570228)

摘要: 为了评价茚虫威原药及其2种手性异构体对家蚕的毒性效应, 以家蚕(*Bombyx mori*)为生物模型, 使用喷雾法测定茚虫威原药和其异构体诱导家蚕体内抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的活性的变化。结果表明, 茚虫威原药、(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威对家蚕的96 hLC₅₀分别为0.379、0.041和0.113 mg·kg⁻¹, (+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威的毒性等级均为剧毒。(+)-R-茚虫威的LC₅₀是(-)-S-茚虫威的2.75倍, 茚虫威的2种手性对映体对家蚕的毒性具有对映选择性。茚虫威的共毒系数为12.868, (+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威之间为拮抗作用。茚虫威诱导家蚕产生氧化应激反应, SOD活性和CAT活性在茚虫威原药处理组中和对照相比均显著上升, 其中SOD活性在(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威处理组中的0.730、1.460和2.920 mg·kg⁻¹显著上升, CAT活性在(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威处理组中除0.183 mg·kg⁻¹外均显著上升。POD活性在茚虫威原药、(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威3个处理组中均下降。茚虫威原药对SOD、CAT和POD的作用效果低于(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威的单独作用之和, (+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威混合使用对家蚕氧化应激的诱导具有拮抗作用。在田间使用茚虫威时, 必须远离桑园, 以免对家蚕造成危害。

关键词: 茚虫威; 手性异构体; 家蚕; 对映选择性; 氧化应激

中图分类号: S482 文献标志码: A 文章编号: 1674-7054(2023)05-0514-07

赵文字, 张洁, 郑世祥, 等. 手性茚虫威对家蚕的急性毒性效应 [J]. 热带生物学报, 2023, 14(5): 514-520. doi: 10.15886/j.cnki.rdsxb.20220035

茚虫威是由美国杜邦公司开发的含有手性分子的恶二噁类杀虫剂, 其中(+)-S-茚虫威具有杀虫活性, 对鳞翅目害虫有较好的防效^[1]。由于单一纯异构体开发成本和技术工艺要求高、成本高, 目前国内市场上销售的茚虫威杀虫剂多数为(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威两种对映体的混合剂型, 其中杜邦公司生产的茚虫威产品主要有3种对映体混合剂型: DPX-JW062(S:R=1:1)、DPX-MP062(S:R=3:1)、DPX-KN128(S:R=1:0)^[2], 中国市场上茚虫威产品主要是富含S异构体的产品(S:R=2.2:1和3:1)^[3-4]。茚虫威广泛应用于对棉花、玉米、水稻和果树等的害虫防治^[5-8]。由于桑园往往与农田、果园等呈交错分布, 对桑园附

近农田及果园施药时, 杀虫剂会随空气漂移落在桑树上对桑叶产生污染^[9-10]。家蚕(*Bombyx mori*)进食被杀虫剂污染的桑叶后后果严重, 甚至可导致蚕茧绝收, 不仅给养蚕业造成巨大的经济损失, 而且对丝绸产业产生影响^[11-12]。目前对环境生物家蚕的毒性报道中使用的多为茚虫威商品药, 其中陈伟国等^[13]测定30%茚虫威悬浮剂对3龄期蚕的24 h LC₅₀为0.3604 mg·L⁻¹, 俞瑞鲜等^[14]和陈丽萍等^[15]测定15%茚虫威悬浮剂对家蚕96 h LC₅₀分别为0.449 mg·L⁻¹和0.439 mg·L⁻¹, 毒性为剧毒。(+)-S-茚虫威、(-)-R-茚虫威及茚虫威原药对家蚕毒性研究较少, 仅有石丽红^[16]采用浸叶法测定了(+)-S-茚虫威(>98%)、(-)-R-茚虫威(>98%)

收稿日期: 2022-05-30

修回日期: 2022-06-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860514、32360684); 海南省自然科学基金高层次人才项目(321RC479)

第一作者: 赵文字(1996-), 女, 海南大学植物保护学院2019级硕士研究生. E-mail: 1697384674@qq.com

通信作者: 范咏梅(1968-), 女, 教授. 研究方向: 农药毒理与农药环境毒性评价. E-mail: yongmeifan@126.com

和 S-茚虫威富集体(2.33S : 1R)对家蚕 96 h 的急性毒性报道, LC_{50} 分别为 1.96、108 和 6.89 mg L^{-1} 。

有研究发现茚虫威手性异构体对斑马鱼的毒性具有对映选择性^[17-18], 诱导斑马鱼产生氧化应激毒性且表现出对映选择性^[19]。然而茚虫威原药、(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威对家蚕的氧化应激的影响尚未见报道, 因此本研究以家蚕为生物模型, 采用喷雾法测定茚虫威原药(3S:1R)、(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威对家蚕的急性毒性, 测定其抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的活性变化来评价茚虫威原药(3S:1R)、(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威对家蚕的毒性效应, 为后续茚虫威的实际应用及其对于环境生物的安全性评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料 试验所用家蚕品种为‘秋风’×‘月白’, 蚕卵购于诸暨市鉴宝农业开发有限公司。实验室自行催青和饲养, 在实验室经 2 d 孵化, 幼虫用新鲜嫩桑叶喂养, 恒温养虫室设置温度条件为(27±1)℃, 相对湿度为 70%~85%, 光照黑暗比为 16 h:8 h, 以二龄起蚕为供试生物, 挑选活性良好、身体健康、体态大小一致、起蚕时间一致的二龄起蚕用作试验。桑叶品种选用‘云桑二号’, 购于诸暨市鉴宝农业开发有限公司。超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒和过氧化物酶(POD)测定试剂盒均购于南京建成生物工程研究所有限公司。茚虫威原药(3S:1R, 98%)购于南京乐邦化工有限公司, (+)-S-茚虫威(98%)和(-)-R-茚虫威(98%)由上海大赛路手性公司拆分所得。

1.2 急性毒性测定

1.2.1 急性毒性测定方法 参照《化学农药家蚕慢性毒性试验准则》(NY/T 3087—2017)附录 B 中农药家蚕急性毒性试验—喷雾法, 使用溶剂 DMF 和助剂 Tween-80 将茚虫威原药、(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威配制成 100 mg L^{-1} 的茚虫威母液, 将母液梯度稀释, 分别为 14.600、7.300、3.650、1.825 和 0.915 mg L^{-1} , 同时设置空白对照组 CK 和助溶剂对照组 SC。选取桑树顶端大小和质量尽量一致的新鲜有光泽的嫩桑叶, 每个处理的桑叶用量为(2.5±0.1)g。将桑叶用清水清洗干净

并晾干表面水渍, 使用喷雾塔设备将试验药液均匀喷洒到桑叶的背面, 以初始喷雾体积为 5 mL, 喷雾压力为 0.048 MPa, 沉降时间为 20 s 作为标准参数。将桑叶自然风干至其表面看不到药液, 再将染毒桑叶置于培养装置中。选择健康、大小一致的二龄起蚕转到桑叶上。每处理 20 头二龄起蚕, 重复 3 次。每结束 1 个处理组的喷雾操作后均对喷雾塔内壁进行清洗擦拭, 以防止内壁形成水滴滴落。喷药前用万分之一天平称量桑叶的质量, 喷药后再次立即称量桑叶质量, 进而可测定每片桑叶上喷施茚虫威的准确含量。计算所得的试验浓度为 2.920、1.460、0.730、0.365 和 0.183 mg kg^{-1} , 在药剂处理后 24、48、72 及 96 h 观察并记录家蚕的中毒症状和死亡情况。用移虫笔轻触家蚕, 家蚕无反应视作死亡。当毒性测定试验中溶剂对照组和空白对照组的死亡率小于 10% 视为有效试验。

1.2.2 共毒系数计算 参照国家农药室内生物测定试验准则 NY/T1154.7-2006 进行共毒系数(CTC)计算。若 $CTC \leq 80$, 表明 2 种药剂混用为拮抗作用; 若 $80 < CTC < 120$, 则为相加作用; 若 $CTC \geq 120$, 则为增效作用。

$$\text{混剂实测毒力指数(ATI)} = (\text{标准杀虫剂 } LC_{50} / \text{混剂的 } LC_{50}) \times 100;$$

$$\text{混剂理论毒力指数(TTI)} = A \text{ 药剂毒力指数} \times A \text{ 药剂在混剂中的百分含量} + B \text{ 药剂毒力指数} \times B \text{ 药剂在混剂中的百分含量};$$

$$\text{共毒系数(CTC)} = (\text{混剂实际毒力指数(ATI)} / \text{混剂理论毒力指数(TTI)}) \times 100。$$

1.3 酶活力测定

1.3.1 粗酶液制备 使用喷雾法按照急性毒性试验浓度处理 24 h, 其中各浓度处理组设置多组重复以满足试验需求, 从每个浓度的处理组中各取 10 头活蚕分别装入离心管中, 用液氮处理后加入 2 mL 的 1×PBS 溶液进行冰浴研磨, 然后使用 Z216MK 冷冻离心机 4℃ 3 500 r min^{-1} 离心 10 min 后, 取上清液作为粗酶液。

1.3.2 总蛋白含量的测定 蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法进行。首先用 0.15 mol L^{-1} 的 NaCl 配制出 100 mL 浓度为 1 000 mg L^{-1} 的牛血清白蛋白, 备用。分别向编号 0~8 的离心管中加入 0.01、0.02、0.06、0.08、0.1、

0.12、0.14和0 mL牛血清白蛋白($1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),然后依次加入0.19、0.18、0.14、0.12、0.10、0.08、0.06和0.2 mL蒸馏水,每管中加入5 mL考马斯亮蓝G-250染料后用离心机涡旋混匀后静置5 min,再将其移到比色皿内置于752紫外分光光度计中,波长调至595 nm,测定吸光值绘制蛋白标准曲线,8号管用于调零,每个处理重复3次。

1.3.3 酶源蛋白含量测定 向编号1~7号的离心管中分别加入0.2 mL上述步骤制备的粗酶液,在8号管中加入0.2 mL蒸馏水,向8个离心管中分别加入5 mL考马斯亮蓝G-250染料,再将离心管中液体转移至比色皿内,将比色皿置于紫外分光光度计中,波长调至595 nm,测定吸光值,8号管用于调零,每个处理重复3次。

1.3.4 SOD、CAT和POD酶活力测定 SOD、CAT和POD酶活力的测定使用752紫外分光光度计进行测定,具体试验步骤操作参照南京建成试剂盒进行。

1.4 数据分析 使用软件IBM SPSS statistics 21.0软件进行统计分析,用GraphPad Prism 9进行数据分析与绘图。

2 结果与分析

2.1 茚虫威对家蚕的毒性影响 参照《化学农药家蚕慢性毒性试验准则》使用桑叶浸渍修正系数

对农药对家蚕的急性毒性等级划分标准的 LC_{50} 进行修正后可知,茚虫威原药对家蚕96 h的毒性等级为高毒,(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威对家蚕96 h的毒性等级为剧毒,毒性大小依次为(-)-R-茚虫威>(+)-S-茚虫威>茚虫威原药。主要中毒症状为吐黄水、蚕体发黑、蚕体缩短现象,随着药液浓度的升高,中毒家蚕越多。(+)-R-茚虫威对家蚕的 LC_{50} 是(-)-S-茚虫威的2.75倍,茚虫威的2种手性对映体对家蚕表现出对映选择性毒性。茚虫威原药(3S:1R)的共毒系数为 $12.868\leq 80$,(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威2种药剂混合表现为拮抗作用(表1)。

2.2 茚虫威对家蚕酶活性的影响 以牛血清白蛋白为标准蛋白绘制蛋白质标准曲线,标准曲线方程为 $y=0.044x+0.048$,相关系数 R^2 为0.971。

2.2.1 茚虫威对家蚕SOD活性的影响 从图1-A可知茚虫威原药诱导家蚕体内的超氧化物歧化酶(SOD)活性上升,和对照组SC相比,5个处理组SOD活性均显著上升。在图1-B中(+)-S-茚虫威处理组中0.730、1.460和2.920 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 个浓度诱导SOD活性显著上升,其余2个浓度SOD活性显著下降。在图1-C中(-)-R-茚虫威处理组中0.183和0.365 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 浓度下诱导SOD活性显著降低,SOD活性在0.730、1.460和2.920 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 浓度下显著上升。

表1 茚虫威原药、(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威对家蚕的毒性测定结果

药剂名称	96 h致死中浓度 $LC_{50}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	95%置信区间/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	回归方程	R^2	共毒系数
茚虫威原药	0.379	0.182 ~ 0.616	$y=1.14+2.57x$	0.911	12.868
(+)-S-茚虫威	0.041	0.002 ~ 0.093	$y=2.25+1.55x$	0.895	
(-)-R-茚虫威	0.113	0.008-0.232	$y=1.75+1.81x$	1.000	

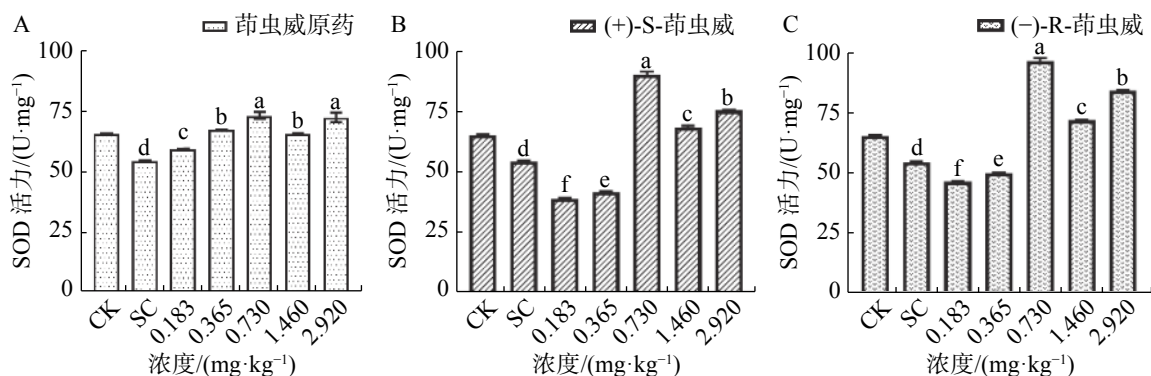


图1 茚虫威对家蚕SOD活性的影响

英文字母表示不同浓度下SOD活性的差异性($P<0.05$),字母相同表示差异不显著。

在 0.183 和 0.365 mg · kg⁻¹ 浓度下, 茚虫威原药诱导 SOD 酶活性和对照相比上升 8.577% 和 23.585%。(+) -S-茚虫威诱导 SOD 酶活性和对照相比下降 28.536% 和 23.317%, (-) -R-茚虫威诱导 SOD 酶活性和对照相比下降 14.735% 和 8.170%。在 0.730、1.460 和 2.920 mg · kg⁻¹ 浓度下, 茚虫威原药诱导 SOD 酶活性和对照相比上升 34.129%、20.626% 和 32.948%。(+) -S-茚虫威诱导 SOD 酶活性和对照相比上升 66.079%、25.723% 和 38.650%, (-) -R-茚虫威诱导 SOD 酶活性和对照相比上升 77.247%、32.006% 和 54.537%。0.183 和

0.365 mg · kg⁻¹(+) -S-茚虫威对 SOD 的抑制效果更好。

2.2.2 茚虫威对家蚕 CAT 活性的影响 由图 2-A 可知茚虫威原药诱导家蚕体内的过氧化氢酶 (CAT) 活性整体呈上升趋势, 和对照相比, 5 个处理组 CAT 活性均显著上升。由图 2-B 可以看出 (+) -S-茚虫威处理组中除 0.183 mg · kg⁻¹ 浓度下 CAT 活性显著下降, 其余处理组 CAT 活性均显著上升。由图 2-C 可知 (-) -R-茚虫威处理组中除 0.183 mg · kg⁻¹ 浓度下 CAT 活性下降, 其余 4 个浓度 CAT 活性均显著上升。

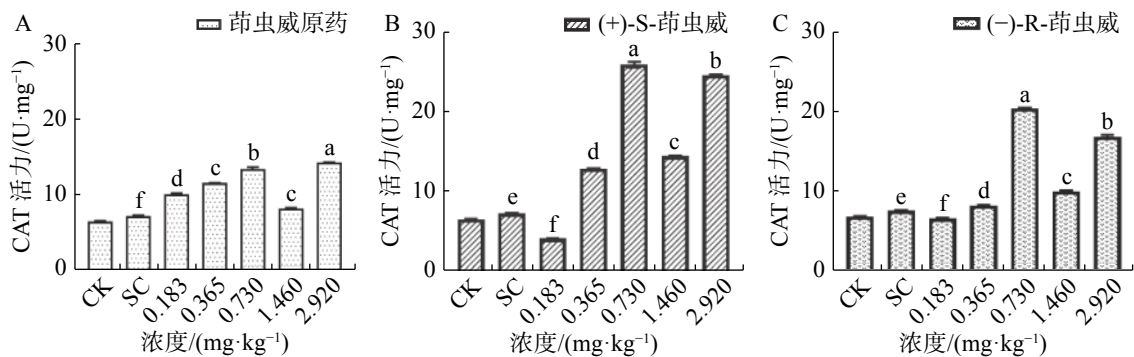


图 2 茚虫威对家蚕 CAT 活性的影响

英文字母表示不同浓度下 CAT 活性的差异性 ($P < 0.05$), 字母相同表示差异不显著。

和对照相比, 在 0.183 mg · kg⁻¹ 浓度下茚虫威原药诱导 CAT 活性上升 39.054%, (+) -S-茚虫威和 (-) -R-茚虫威诱导 CAT 活性下降 42.420% 和 13.169%。在 0.365、0.730、1.460 和 2.920 mg · kg⁻¹ 浓度下, 茚虫威原药诱导 CAT 活性上升 59.065%、84.756%、33.526% 和 95.957%, (+) -S-茚虫威诱导 CAT 活性上升 76.001%、251.725%、34.229% 和 234.280%, (-) -R-茚虫威诱导 CAT 活性上升 8.590%、173.678%、30.407% 和 125.553%。在 0.183 mg · kg⁻¹(+) -S-茚虫威对 CAT 的活性抑制效

果最好。

2.2.3 茚虫威对家蚕 POD 活性的影响 由图 3-A 可知, 茚虫威原药处理组中 5 个浓度均诱导家蚕体内 POD 活性下降。图 3-B 结果表明, 和对照相比, (+) -S-茚虫威诱导 POD 活性均显著下降。由图 3-C 可知, (-) -R-茚虫威诱导 POD 活性下降, 和对照相比, 5 个浓度家蚕 POD 活性均显著下降。

和对照相比, 在 0.183、0.365、0.730、1.460 和 2.920 mg · kg⁻¹ 浓度下茚虫威原药诱导 POD 活性下降 165.885%、93.751%、30.108%、52.268% 和

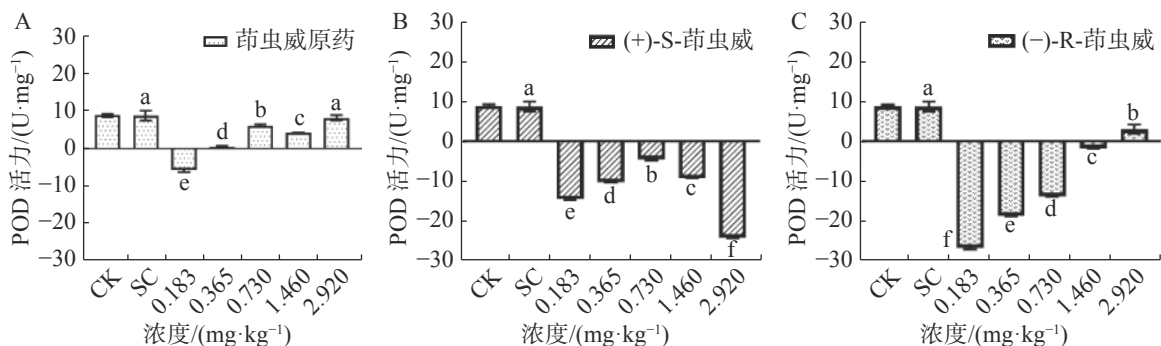


图 3 茚虫威对家蚕 POD 活性的影响

英文字母表示不同浓度下 SOD 活性的差异性 ($P < 0.05$), 字母相同表示差异不显著。

6.206%; (+)-S-茚虫威诱导 POD 活性下降 266.722%、217.385%、151.490%、205.520% 和 378.033%; (-)-R-茚虫威诱导 POD 活性下降 406.287%、314.239%、258.185%、119.468% 和 64.830%。(-)-R-茚虫威在 0.183、0.365、0.730 mg·kg⁻¹ 对 POD 活性的抑制效果最好, (+)-S-茚虫威在 0.183 和 2.920 mg·kg⁻¹ 2 个浓度对 POD 的抑制效果最好。

3 讨论

对于大多数手性农药而言, 其一种手性异构体对同种生物的急性毒性往往高于其外消旋体, 且 2 种手性异构体可能在同种生物中表现出不同的毒性^[20-21]。石丽红^[16]采用浸叶法测定的(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威 96 h 的 LC₅₀ 分别为 1.96 和 108 mg·L⁻¹, 用桑叶浸渍修正系数修正后为 0.901 6 和 49.680 0 mg·kg⁻¹。本试验家蚕毒性测定方法中喷雾法可通过试验前后称量桑叶重量对农药进行定量, 和浸叶法相比, 该方法定量更精准、喷雾更均匀^[22-23], 本研究结果表明, (+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威对家蚕 96 h 的 LC₅₀ 分别为 0.041 和 0.113 mg·kg⁻¹, 茚虫威的 2 种手性异构体对家蚕的毒性存在对映选择性的差异。

据报道, 斑马鱼成鱼暴露于不同浓度的(-)-R-茚虫威和(+)-S-茚虫威 96 h 后, (+)-S-茚虫威在 96 h 对斑马鱼胚胎的毒性是(-)-R-茚虫威的 5.637 倍; 斑马鱼幼鱼暴露于不同浓度的(-)-R-茚虫威和(+)-S-茚虫威 96 h 后, (+)-S-茚虫威在 96h 对斑马鱼幼鱼的毒性是(-)-R-茚虫威的 3.352 倍^[24]。本研究结果表明, (-)-R-茚虫威对家蚕的毒性是(+)-S-茚虫威的 2.75 倍, 茚虫威的 2 种手性异构体对家蚕的毒性存在对映选择性的差异。

生物体中存在多种抗氧化酶系包括过氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等, SOD、CAT 和 POD 三者协调一致, 处于动态平衡, 从而使自由基维持在一个较低水平, 防止自由基产生毒害^[25]。微量农药诱导昆虫体内自由基(ROS)积累发生氧化应激^[26-27], 钩虾暴露于茚虫威 24、48、96 h 后, SOD 和 CAT 活性随暴露时间增加而增加^[28], 低剂量的茚虫威诱导鲤鱼肾脏中的 SOD 和 CAT 酶基因表达均发生上调^[29]。本

试验结果表明, 和对照相比, 在(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威处理组中 SOD 和 CAT 活性在 0.730、1.460 和 2.920 mg·kg⁻¹ 3 个浓度时显著上升, SOD 和 CAT 活性上升可能参与了家蚕氧化应激中自由基的清除过程^[30], 以减轻茚虫威对家蚕造成的损害。在茚虫威原药、(+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威处理组中 POD 活性均下降, 可能影响自由基清除过程中对 H₂O₂ 的催化^[31]。

杀虫剂混配后可能产生增效、相加或拮抗的联合作用效果^[32-33]。三唑磷和氯氟氰菊酯混合剂对蚯蚓的联合毒性表现为协同作用, 该混合剂对蚯蚓体内 POD 酶活性的诱导作用大于单独使用三唑磷或氯氟氰菊酯的效果^[34]。阿维菌素和氟虫脲混合剂联合毒性表现为协同作用, 混合农药处理的舞毒蛾幼虫 SOD、POD 和 CAT 活性均高于单独使用阿维菌素或氟虫脲处理组^[35]。有研究表明, 敌敌畏和溴氰菊酯及其混合剂均能抑制大鼠肝脏的 SOD 和 CAT 的活性, 单独使用时溴氰菊酯抑制效果更好, 敌敌畏与溴氰菊酯混配剂对 SOD 和 CAT 的抑制效果低于二者单独作用的效果总和, 敌敌畏与溴氰菊酯混合使用对大鼠肝脏氧化应激的诱导具有拮抗作用^[36]。二嗪农和溴氰菊酯混合对大鼠血液中 MDA、GST、SOD 的活性具有拮抗作用^[37]。本试验结果表明, (+)-S-茚虫威和(-)-R-茚虫威之间的毒性效应为拮抗作用, 和二者联合毒性作用效果一致。

参考文献:

- [1] 华乃震. 低风险、环境友好杀虫剂茚虫威[J]. 世界农药, 2019, 41(1): 39-44.
- [2] 李富根, 艾国民, 李友顺, 等. 茚虫威的作用机制与抗性研究进展[J]. 农药, 2013, 52(8): 558-560.
- [3] ZHANG Y, HU D, LING H, et al. Comparative study of the selective degradations of two enantiomers in the racemate and an enriched concentration of indoxacarb in soils [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(37): 9066-9072.
- [4] 班华卓, 张大永. 新颖高效手性杀虫剂茚虫威的研究进展[J]. 农药, 2018, 57(12): 864-869.
- [5] WANG Q, RUI C, WANG L, et al. Field-evolved resistance to 11 insecticides and the mechanisms involved in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Pest Management Science*, 2021, 77(11): 5086-5095.
- [6] 商瞰, 刘英, 杨茂发, 等. 虫螨脲和茚虫威及其混配剂对草地贪夜蛾的室内毒力测定[J]. 山地农业生物学报,

- 2021, 40(3): 69 – 73.
- [7] 吕楠楠, 梁沛, 高希武. 主要农业害虫对茚虫威的抗性现状及治理策略[J]. 植物保护学报, 2020, 47(6): 1188 – 1201.
- [8] 沈晓媛, 阮赞誉, 林蔚红. 茚虫威及其复配制剂对稻纵卷叶螟的田间防效[J]. 南方农业, 2020, 14(14): 41 – 42.
- [9] 沈瑞, 刘茹婷, 王学杨, 等. 农药对家蚕的毒性研究进展[J]. 中国蚕业, 2021, 42(2): 58 – 65.
- [10] 黄深惠, 蒋满贵, 黄旭华, 等. 桑园周边作物使用农药对蚕桑生产的影响[J]. 广西蚕业, 2019, 56(1): 63 – 67.
- [11] 黄深惠, 蒋满贵. 谨防家蚕农药中毒, 保障蚕业生产安全[J]. 广西蚕业, 2020, 57(3): 33.
- [12] 唐震. 农药种类对蚕业生产的影响与建议[J]. 广东蚕业, 2020, 54(5): 3 – 4.
- [13] 陈伟国, 戴建忠, 林蔚红, 等. 茚虫威及其复配剂对家蚕的毒性和安全性评价[J]. 蚕桑通报, 2018, 49(2): 28 – 32.
- [14] 俞瑞鲜, 赵学平, 吴长兴, 等. 茚虫威对环境生物的安全性评价[J]. 农药, 2009, 48(1): 47 – 49.
- [15] 陈丽萍, 赵学平, 吴长兴, 等. 6种农药对家蚕的毒性与安全性评价研究[J]. 农药科学与管理, 2006(3): 22 – 24.
- [16] 石丽红. 茚虫威对映体在水稻上的选择性降解及对家蚕的毒性差异研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2018.
- [17] FAN Y, FENG Q, LAI K, et al. Toxic effects of indoxacarb enantiomers on the embryonic development and induction of apoptosis in *Zebrafish larvae* (*Danio rerio*) [J]. *Environmental toxicology*, 2017, 32(1): 7 – 16.
- [18] 张钰萍, 张万敏, 柳敏, 等. 茚虫威对映体对斑马鱼毒性的手性选择性试验[J]. 农药, 2015, 54(4): 278 – 281.
- [19] 贾波. 多壁碳纳米管对茚虫威在斑马鱼中对映体选择性富集及毒性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2019.
- [20] YE J, ZHAO M, NIU L L, et al. Enantioselective environmental toxicology of chiral pesticides [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2015, 28(3): 325 – 338.
- [21] DE ALBUQUERQUE N C P, CARRÃO D B, HABENSCHUS M D, et al. Metabolism studies of chiral pesticides: A critical review [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 147: 89 – 109.
- [22] 张骞. 农药对家蚕的慢性毒性试验方法和吡虫啉等对家蚕的慢性毒性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- [23] CHI YY, QIAO K, JIANG H, et al. Comparison of two acute toxicity test methods for the silkworm (*Lepidoptera: Bombycidae*) [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2015, 108(1): 145 – 149.
- [24] 冯青. 手性农药茚虫威对斑马鱼毒性研究[D]. 海口: 海南大学, 2015.
- [25] MILKOVIC L, CIPAK GASPARIĆ A, CINDRIĆ M, et al. Short overview of ROS as cell function regulators and their implications in therapy concepts [J]. *Cells*, 2019, 8(8): 793.
- [26] WANG H, LI F, QU J, et al. The mechanism of damage by trace amounts of acetamiprid to the midgut of the silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Environmental Toxicology*, 2019, 34(9): 1043 – 1051.
- [27] LI B, YU X, GUI S, et al. Molecular mechanisms of phoxim-induced silk gland damage and TiO₂ nanoparticle-attenuated damage in *Bombyx mori* [J]. *Chemosphere*, 2014, 104: 221 – 227.
- [28] DEMIRCI Ö, GÜVEN K, ASMA D, et al. Effects of endosulfan, thiamethoxam, and indoxacarb in combination with atrazine on multi-biomarkers in *Gammarus kischineffensis* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 147: 749 – 758.
- [29] MELIKA G, ALI TAHERI M, SEYED HOSSEIN H, et al. Expression of immune, antioxidant and stress related genes in different organs of common carp exposed to indoxacarb [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019, 20(8): 208 – 216.
- [30] MUTHUSAMY R, RAJAKUMAR S. Antioxidative response in a silkworm, *Bombyx mori* larvae to dichlorvos insecticide [J]. *Free Radicals and Antioxidants*, 2016, 6(1): 58 – 63.
- [31] 曹树煜, 刘均洪. 过氧化物酶应用的生物技术进展[J]. 化学工业与工程技术, 2003(5): 28 – 33.
- [32] LYDY M, BELDEN J, WHEELOCK C, et al. Challenges in regulating pesticide mixtures [J]. *Ecology and Society*, 2004, 9(6): 1.
- [33] HERNÁNDEZ AF, GIL F, LACASAÑA M, et al. Toxicological interactions of pesticide mixtures: an update [J]. *Archives of Toxicology*, 2017, 91(10): 3211.
- [34] 苏连水, 杨桂玲, 吴声敢, 等. 三唑磷和氯氟氰菊酯对蚯蚓的联合毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(3): 294 – 301.
- [35] ZENG J Y, ZHANG F M, WU Y, et al. Synergy mechanism of abamectin and triflumuron on *Lymntria dispar* larvae [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2018, 54(12): 110 – 115.
- [36] XU M Y, WANG P, SUN Y J, et al. Redox status in liver of rats following subchronic exposure to the combination of low dose dichlorvos and deltamethrin [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2015, 124: 60 – 65.
- [37] ELHALWAGY M E A, ZAKI N I. Comparative study on pesticide mixture of organophosphorus and pyrethroid in commercial formulation [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2009, 28(2): 219 – 224.

The acute toxic effects of chiral indoxacarb on *Bombyx mori*

ZHAO Wenyu, ZHANG Jie, ZHENG Shixiang, WANG Xinyu, SU Xiaoting, FAN Yongmei

(College of Plant Protection/Ministry of Education Key Laboratory of Green Management of Tropical Plant Diseases and Pests,
Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Indoxacarb belongs to oxadiazine insecticide, which blocks the insect sodium channel. Lepidopteran pests, such as *Cotton Bollworm*, *Plutella xylostella*, and *Spodoptera litura*, were effectively controlled by indoxacarb. The scholars have focused on the selective toxicity of indoxacarb isomers to non-target organisms. In this study the acute toxicity of indoxacarb and its isomers, (+)-S-indoxacarb and (-)-R-indoxacarb, on the silkworm *Bombyx mori* was evaluated by spray method. Additionally, the toxic effects of indoxacarb and its isomers on the silkworm were evaluated by measuring the changes in the activities of antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and peroxidase (POD) in the silkworm. The results showed that the 96 h-LC₅₀ of indoxacarb, (+)-S-indoxacarb and (-)-R-indoxacarb to the silkworm were 0.379, 0.041 and 0.113 mg·kg⁻¹ mulberry leaf, respectively. The (+)-S- indoxacarb and (-)-R- indoxacarb were highly toxic to the silkworm. The 96 h-LC₅₀ of the (+)-S-indoxacarb was 2.750 folds higher than that of the (-)-R-indoxacarb, which suggested an enantioselective toxicity to the silkworms. The mixture of the (+)-S-indoxacarb and (-)-R-indoxacarb showed an antagonism effect with the co-toxicity coefficient being 12.868. The activities of SOD and CAT in the silkworm were significantly increased in the indoxacarb treatment groups, which induced oxidative stress in the silkworm. The activities of SOD significantly increased in the (+)-S-indoxacarb and (-)-R-indoxacarb treatment groups with the concentrations of 0.730, 1.460, and 2.920 mg·kg⁻¹ mulberry leaf. The activities of CAT significantly increased in the (+)-S-indoxacarb and (-)-R-indoxacarb treatment groups with all the concentrations except the concentration of 0.183 mg·kg⁻¹. The activities of POD were decreased in all the indoxacarb treatment groups. The effect of indoxacarb on SOD, CAT and POD was lower than the sum of the individual effects of the (+)-S-indoxacarb and (-)-R-indoxacarb, indicating that the mixture of the (+)-S-indoxacarb and (-)-R-indoxacarb produced antagonistic effects on inducing of oxidative stress in the silkworm. The toxic effects of indoxacarb, (+)-S-indoxacarb and (-)-R-indoxacarb on silkworms were preliminarily evaluated, which provides reference for the application of indoxacarb in the field. This result suggests that the indoxacarb when sprayed in the field should be kept away from mulberry gardens to avoid harm to silkworms.

Keywords: indoxacarb; chiral isomers; *Bombyx mori*; enantioselective; oxidative stress

(责任编辑:钟云芳)