

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20170520001

苍涛, 王彦华, 吴长兴, 等. 新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性及风险评价[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(4): 285-292

Cang T, Wang Y H, Wu C X, et al. Acute toxicity and risk assessment of neonicotinoid insecticides to honeybees (*Apis mellifera* L.) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(4): 285-292 (in Chinese)

## 新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性及风险评价

苍涛, 王彦华, 吴长兴, 王祥云, 徐明飞, 陈丽萍, 王强, 蔡磊明, 赵学平\*

省部共建国家重点实验室培育基地“浙江省植物有害生物防控重点实验室”, 农业部农药残留检测重点实验室, 浙江省农业科学院农产品质量标准研究所, 杭州 310021

收稿日期: 2017-05-20 录用日期: 2017-07-31

**摘要:** 为新烟碱类杀虫剂合理使用提供科学依据, 本研究采用饲喂法和点滴法测定了9种新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性效应, 且根据风险商值法进行了风险评价, 氟啶虫酰胺和吡蚜酮作为对照药剂。试验结果表明: 6种新烟碱类杀虫剂(噻虫胺、呋虫胺、吡虫啉、烯啶虫胺、氟啶虫胺胍和噻虫嗪)对蜜蜂经口和接触毒性的48 h-LD<sub>50</sub>值为 $1.73 \times 10^{-3}$  ( $1.37 \times 10^{-3} \sim 2.45 \times 10^{-3}$ ) ~  $35.3 \times 10^{-2}$  ( $30.5 \times 10^{-2} \sim 41.4 \times 10^{-2}$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{蜂}^{-1}$ , 均属于高毒级; 其次为氯噻啉, 该药剂对蜜蜂经口和接触毒性的48 h-LD<sub>50</sub>值为 $56.4 \times 10^{-2}$  ( $40.9 \times 10^{-2} \sim 95.5 \times 10^{-2}$ ) 和 $2.05$  ( $1.13 \sim 3.18$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{蜂}^{-1}$ , 分别为高毒和中毒; 而啉虫脒和噻虫啉对蜜蜂经口和接触毒性的48 h-LD<sub>50</sub>值为 $2.57$  ( $1.94 \sim 3.75$ ) ~  $9.85$  ( $8.23 \sim 11.6$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{蜂}^{-1}$ , 为中毒级。对照药剂氟啶虫酰胺和吡蚜酮对蜜蜂经口和接触毒性的48 h-LD<sub>50</sub>值均>100  $\mu\text{g} \cdot \text{蜂}^{-1}$ , 为低毒级。风险评价结果表明: 噻虫胺、呋虫胺、吡虫啉、噻虫嗪、氯噻啉、烯啶虫胺和氟啶虫胺胍对蜜蜂具有不可接受的风险, 啉虫脒、噻虫啉和对照药剂氟啶虫酰胺、吡蚜酮对蜜蜂的风险可接受。因此, 在害虫综合治理中, 应谨慎使用新烟碱类杀虫剂, 以免对蜜蜂产生严重的毒副作用。

**关键词:** 新烟碱类杀虫剂; 吡虫啉; 蜜蜂; 急性毒性; 风险评价

文章编号: 1673-5897(2017)4-285-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Acute Toxicity and Risk Assessment of Neonicotinoid Insecticides to Honeybees (*Apis mellifera* L.)

Cang Tao, Wang Yanhua, Wu Changxing, Wang Xiangyun, Xu Mingfei, Chen Liping, Wang Qiang, Cai Leiming, Zhao Xueping\*

State Key Laboratory Breeding Base for Zhejiang Sustainable Plant Pest Control; Key Laboratory for Pesticide Residue Detection of Ministry of Agriculture; Institute of Quality and Standard for Agro-products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China

Received 20 May 2017 accepted 31 July 2017

**Abstract:** To establish a scientific basis for the rational use of neonicotinoid insecticides, the acute toxicities of nine neonicotinoid insecticides to honeybees were determined by feeding and dripping methods, and the risk assessment was also performed according to the risk quotient method. Flonicamid and pymetrozine were used as reference substances. Results from 48-h oral and contact toxicities indicated that six neonicotinoid insecticides (clothian-

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0201206); 浙江省自然科学基金项目(LQ14B070004); 公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303088)

作者简介: 苍涛(1981-), 男, 副研究员, 研究方向为农药应用及环境安全性评价, E-mail: ct1981@sohu.com

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: zhaoxueping@tom.com

idin, dinotefuran, imidacloprid, nitenpyram, sulfoxaflor and thiamethoxam) were highly toxic to honeybees with  $LD_{50}$  values ranging from  $1.73 \times 10^{-3}$  ( $1.37 \times 10^{-3}$ - $2.45 \times 10^{-3}$ ) to  $35.3 \times 10^{-2}$  ( $30.5 \times 10^{-2}$ - $41.4 \times 10^{-2}$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{bee}^{-1}$ , followed by imidacloprid that were highly and moderately toxic to honeybees with  $LD_{50}$  values of  $56.4 \times 10^{-2}$  ( $40.9 \times 10^{-2}$ - $95.5 \times 10^{-2}$ ) and  $2.05$  ( $1.13$ - $3.18$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{bee}^{-1}$ , while acetamiprid and thiacloprid were moderately toxic to honeybees with  $LD_{50}$  values ranging from  $2.57$  ( $1.94$ - $3.75$ ) to  $9.85$  ( $8.23$ - $11.6$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{bee}^{-1}$ . In contrast, the reference pesticides flonicamid and pymetrozine exhibited low toxicity to the insects with  $LD_{50}$  values  $> 100 \mu\text{g} \cdot \text{bee}^{-1}$ . Results of risk assessment showed that clothianidin, dinotefuran, imidacloprid, thiamethoxam, imidacloprid, nitenpyram and sulfoxaflor were classified with unacceptable risk, while acetamiprid, thiacloprid and reference substances (flonicamid and pymetrozine) were classified as acceptable risk to honeybees. Therefore, the use of neonicotinoids, should be carefully evaluated by integrated pest management (IPM) programs in order to avoid serious damages to honeybees.

**Keywords:** neonicotinoid insecticides; imidacloprid; honeybee; acute toxicity; risk assessment

蜜蜂在生态系统中具有重要地位及作用,是自然界数量最多的传粉昆虫,为农作物和野生植物提供授粉服务,由于其具有授粉专一性、群居可迁移性、可驯化性,也是农业生产中最理想的授粉昆虫。蜜蜂在为许多植物授粉的同时,也获得自身赖以生存和繁殖的蜂蜜和花粉,并提供有价值的蜂蜜、蜂王浆、蜂蜡、蜂胶等蜂产品<sup>[1-4]</sup>。农药防治是当前农业生产中减少作物病虫害的主要手段,保护约15%~25%的作物产量免受损失。蜜蜂不可避免地经常暴露于农药环境中,可能会通过采集花粉或花蜜间接受到危害。与其他昆虫相比,蜜蜂基因组中缺乏能够编码解毒酶的基因,这使得蜜蜂更容易受到杀虫剂的危害<sup>[5-6]</sup>。

新烟碱类杀虫剂是目前国内外市场上发展最快的农药种类之一,也是作物保护中最重要的化学产品<sup>[7]</sup>。该类杀虫剂作用于烟碱乙酰胆碱受体的神经毒素,通过对昆虫的运动神经系统破坏造成死亡,并在植株体内具有较好的内吸活性,对水稻、小麦、果树、蔬菜、茶树等作物上的飞虱、蚜虫、叶蝉、木虱、蜡类、粉虱、蓟马等多种刺吸式口器害虫和部分咀嚼式口器害虫显示出较高的杀虫活性,而且对哺乳动物低毒,正在被世界各地广泛使用<sup>[8-10]</sup>。2006年,美洲和欧洲相继爆发了大规模的蜂群衰竭失调症(Colony Collapse Disorder, CCD),2008年南美洲和2010年欧洲报道蜜蜂的蜂群数量锐减,并引发相关国家发生了严重的农作物授粉危机和科研工作者、农药管理者及生产者的极大关注<sup>[11-12]</sup>。研究表明,导致蜜蜂蜂群衰竭失调症的原因较多,其中农药的滥用是重要因素之一,并将新烟碱类农药列为主要风险因子<sup>[13-14]</sup>。为了系统地明确新烟碱类农药对蜜蜂的毒性效应,本文选择已在我国市场化的9种新烟碱类

农药及2种同样对刺吸式口器害虫具有卓越活性的农药氟啶虫酰胺、吡蚜酮<sup>[15-17]</sup>,研究其对意大利蜜蜂的急性毒性,并进行初步风险评价,旨在为我国新烟碱类农药的安全合理使用和替代提供科学参考依据。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 供试生物

意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.),浙江省义乌市佛堂镇王焕兴养蜂场提供,养殖于浙江省农业科学院。试验时从未用过抗生素的同一蜂群采集身体健康,大小一致的成年工蜂。

### 1.2 供试药剂

96%啉虫脒(acetamiprid)原药(江苏常隆化工有限公司);95%噻虫胺(clothianidin)原药(日本住友化学株式会社);95%呋虫胺(dinotefuran)原药(江苏常隆化工有限公司);95.3%吡虫啉(imidacloprid)原药(江苏常隆化工有限公司);95%氯噻啉(imidacloprid)原药(南通江山农药化工股份有限公司);95%烯啶虫胺(nitenpyram)原药(南通江山农药化工股份有限公司);50%氟啶虫酰胺(sulfoxaflor)水分散粒剂(美国陶氏益农公司);97.5%噻虫啉(thiacloprid)原药(天津市兴光农药厂);97.7%噻虫嗪(thiamethoxam)原药(瑞士先正达作物保护有限公司);10%氟啶虫酰胺(flonicamid)水分散粒剂(日本石原产业株式会社);96%吡蚜酮(pymetrozine)原药(江苏安邦电化有限公司)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 急性经口毒性试验

本试验采用参照文献<sup>[18-19]</sup>中的饲喂管法测定农药对蜜蜂的急性毒性。试验前,将供试原药用丙酮及吐温-80配制成一定浓度母液,进行预备试验初步确定正式试验的浓度范围。正式试验时,首先将

各药剂母液用 50% 蔗糖水溶液稀释成 5~7 个试验浓度,在饲喂管中分别添加 200  $\mu\text{L}$  含有不同浓度供试物的药液饲喂蜜蜂,待药液消耗完或最长 6 h 取出饲喂管,测量每个饲喂管的药液消耗量,并饲喂不含药剂的 50% 蔗糖水溶液饲喂至试验结束。以含丙酮及吐温-80 的 50% 蔗糖水溶液作为溶剂对照,试验组、溶剂对照组和空白对照组均设 3 个平行,每笼 10 只蜜蜂。将蜂笼置于温度为 $(25\pm 2)$   $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度为 50%~70%,微光条件下。在对照组蜜蜂死亡率小于 10% 的情况下观察并记录蜜蜂 24 h、48 h 的中毒症状及死亡率,采用“DPS 数据处理系统”9.50 标准版计算药剂对蜜蜂的半数致死剂量( $\text{LD}_{50}$  值)及 95% 置信区间。

### 1.3.2 急性接触毒性试验

本试验采用参考文献<sup>[19-20]</sup>中的点滴法测定农药对蜜蜂的急性毒性。进行试验前先进行预备试验,初步确定正式试验的浓度范围。正式试验时首先将各药剂用丙酮稀释成 5~7 个试验浓度,再将蜜蜂移入塑料网袋中,轻轻拉紧固定于点滴框上,蜜蜂被夹在两层纱网中。通过纱网孔对准蜜蜂前胸背板处,用微量点滴注射器分别点滴不同浓度药液 1.0  $\mu\text{L}$ ,待丙酮挥发完后立即转入试验蜂笼(10 cm $\times$ 10 cm $\times$ 10 cm)中。以纯丙酮溶剂作为溶剂对照,试验组、溶剂对照组和空白对照组均设 3 个平行,每笼 10 只蜜蜂。在温度为 $(25\pm 2)$   $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 50%~70%,微光条件下用 50% 蔗糖水饲喂至试验结束。在对照组蜜蜂死亡率小于 10% 的情况下观察并记录蜜蜂 24 h、48 h 的中毒症状及死亡率,采用“DPS 数据处理系统”9.50 标准版计算药剂对蜜蜂的半数致死剂量( $\text{LD}_{50}$  值)及 95% 置信区间。

### 1.4 毒性等级划分依据

根据我国农药对蜜蜂的毒性等级划分标准<sup>[19]</sup>,将急性毒性分为 4 个等级:当  $\text{LD}_{50}\leq 0.001\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$  时,农药对蜜蜂为剧毒, $0.001<\text{LD}_{50}\leq 2.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$  时农药对蜜蜂为高毒, $2.0<\text{LD}_{50}\leq 11.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$  时农药对蜜蜂为中毒, $\text{LD}_{50}>11.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$  时农药对蜜蜂为低毒。以  $\text{LD}_{50}$  值的 95% 置信限是否有重叠作为判断毒性差异是否显著的标准<sup>[21]</sup>。

### 1.5 风险评价依据

依据我国农药对蜜蜂的环境风险评估指南,利用风险商值(risk quotient, RQ)分别判定在喷施场景和土壤或种子处理场景下,农药对蜜蜂的风险可接受程度:当  $\text{RQ}\leq 1$  时,风险可接受; $\text{RQ}>1$  时,风险

不可接受<sup>[22]</sup>。

#### 1.5.1 喷施场景

喷施农药暴露场景的风险商值( $\text{RQ}_{\text{sp}}$ )按公式(1)计算。

$$\text{RQ}_{\text{sp}} = \frac{\text{AR}}{\text{LD}_{50} \times 50} \quad (1)$$

式中:AR—推荐的农药单次最高施用量( $\text{g a.i.}\cdot\text{hm}^{-2}$ )。

#### 1.5.2 土壤或种子处理场景

土壤或种子处理场景的风险商值( $\text{RQ}_{\text{sys}}$ )按公式(2)、(3)、(4)计算。

$$\text{RQ}_{\text{sys}} = \frac{\text{PED}_{\text{sys}}}{\text{PNED}_{\text{sys}}} \quad (2)$$

$$\text{PED}_{\text{sys}} = R_p \times \text{MFI} \quad (3)$$

$$\text{PNED}_{\text{sys}} = \frac{\text{EnP}}{\text{UF}} \quad (4)$$

式中: $\text{PED}_{\text{sys}}$ —花粉、花蜜中内吸性农药的预测暴露剂量( $\mu\text{g a.i.}\cdot\text{蜂}^{-1}$ ); $\text{PNED}_{\text{sys}}$ —内吸性农药的预测无效应剂量( $\mu\text{g a.i.}\cdot\text{蜂}^{-1}$ ); $R_p$ —相关作物单位重量花粉或花蜜中的农药残留量( $\text{mg a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$ );MFI—单只蜜蜂的最高日摄食量( $\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ );EnP—毒性数据终点( $\mu\text{g a.i.}\cdot\text{蜂}^{-1}$ );UF—不确定因子。

## 2 结果(Results)

### 2.1 中毒症状

停止给药后 4 h 开始观察,吡蚜酮、氟啶虫酰胺、溶剂对照组及空白对照组处理的蜜蜂较正常,其他 9 种新烟碱类农药处理的蜜蜂表现出相似的中毒症状,主要为爬行较快但腿部活动不协调易侧倒、身体摇晃、静卧但身体无规则颤抖、抽搐、活动迟缓,高浓度组蜜蜂有呕吐症状出现。

### 2.2 11 种农药对蜜蜂的急性经口毒性

饲喂管法测定的 11 种农药对蜜蜂的急性经口毒性  $\text{LD}_{50}$  及 95% 置信区间详见表 1。结果表明,吡蚜酮和氟啶虫酰胺对蜜蜂的急性经口毒性  $\text{LD}_{50}$  均大于  $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ ,其他 9 种新烟碱类农药对蜜蜂的急性经口毒性效应随着观察时间的延长而增加。给药后 24 h,9 种新烟碱类农药对蜜蜂急性经口的  $\text{LD}_{50}$  值范围为  $1.75\times 10^{-3}(1.41\times 10^{-3}\sim 2.42\times 10^{-3})\sim 10.8(7.96\sim 18.6)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ 。随着中毒时间的延长,各药剂对蜜蜂的急性毒性效应均相应增加,给药后 48 h,9 种新烟碱类农药对蜜蜂急性经口的  $\text{LD}_{50}$  值范围为  $1.73\times 10^{-3}(1.37\times 10^{-3}\sim 2.45\times 10^{-3})\sim 8.79(6.74\sim 13.4)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ 。

从试验结果可以看出,9 种新烟碱类农药对蜜

蜂处理后 48 h 的急性毒性效应较其处理后 24 h 的急性毒性效应增加程度不一,其中吡虫啉对蜜蜂的急性毒性效应增加最为明显,约为 1.8 倍,而噻虫嗪、噻虫胺、烯啶虫胺、啶虫脒对蜜蜂的急性毒性效应增加均小于 1.1 倍。根据我国农药对蜜蜂的急性毒性分级标准<sup>[9]</sup>,吡蚜酮、氟啶虫酰胺属于低毒级,啶虫脒、噻虫啉属于中毒级,其他 7 种新烟碱类农药属于高毒级。11 种农药对蜜蜂的急性经口毒性次序为(48 h 结果):噻虫嗪>呋虫胺>噻虫胺>吡虫啉>烯啶虫胺>氟啶虫胺胍>氯噻啉>噻虫啉>啶虫脒>吡蚜酮、氟啶虫酰胺。

2.3 11 种农药对蜜蜂的急性接触毒性

点滴法测定的 11 种农药对蜜蜂的急性接触毒性 LD<sub>50</sub> 及 95% 置信区间详见表 1。结果表明,吡蚜酮和氟啶虫酰胺对蜜蜂的急性接触毒性 LD<sub>50</sub> 均大于 100 μg·蜂<sup>-1</sup>,其他 9 种新烟碱类农药对蜜蜂的急性接触毒性效应随着观察时间的延长而增加。给药后 24 h,9 种新烟碱类农药对蜜蜂急性接触的 LD<sub>50</sub> 值

范围为 1.65×10<sup>-2</sup>(1.35×10<sup>-2</sup>~2.31×10<sup>-2</sup>)~ 13.9 (11.7~17.4) μg·蜂<sup>-1</sup>。随着中毒时间的延长,各药剂对蜜蜂的急性毒性效应均相应增加,给药后 48 h,9 种新烟碱类农药对蜜蜂急性接触的 LD<sub>50</sub> 值范围为 1.28×10<sup>-2</sup> (1.11×10<sup>-2</sup>~1.56×10<sup>-2</sup>)~ 9.85(8.23~11.6) μg·蜂<sup>-1</sup>。

从试验结果可以看出,9 种新烟碱类农药对蜜蜂处理后 48 h 的急性毒性效应也同样较其处理后 24 h 的急性毒性效应有不同程度增加,其中氯噻啉对蜜蜂的急性毒性效应增加最为明显,约为 5.66 倍,其次为烯啶虫胺对蜜蜂的急性毒性效应增加 2.08 倍,剩余的 7 种新烟碱类农药对蜜蜂的急性毒性效应增加均小于 2 倍。根据我国农药对蜜蜂的急性毒性分级标准<sup>[9]</sup>,吡蚜酮、氟啶虫酰胺属于低毒级,噻虫啉、啶虫脒、氯噻啉属于中毒级,其他 6 种新烟碱类农药属于高毒级。11 种农药对蜜蜂的急性接触毒性次序为(48 h 结果):噻虫胺>噻虫嗪>吡虫啉>呋虫胺>烯啶虫胺>氟啶虫胺胍>氯噻啉>啶虫脒>噻虫啉>吡蚜酮、氟啶虫酰胺。

表 1 11 种农药对蜜蜂的急性毒性  
Table 1 Acute toxicity of 11 kinds of pesticides to honeybees

农药 Pesticides	试验类型 Test type	24 h-LD <sub>50</sub> and 95% CI/(μg·bee <sup>-1</sup> )	48 h-LD <sub>50</sub> and 95% CI/(μg·bee <sup>-1</sup> )
啶虫脒	经口 Oral	10.8(7.96~18.6)	8.79(6.74~13.4)
Acetamiprid	接触 Contact	7.33(5.32~11.9)	5.45(4.11~7.91)
噻虫胺	经口 Oral	6.38×10 <sup>-3</sup> (5.25×10 <sup>-3</sup> ~7.49×10 <sup>-3</sup> )	6.19×10 <sup>-3</sup> (5.05×10 <sup>-3</sup> ~7.30×10 <sup>-3</sup> )
Clothianidin	接触 Contact	1.65×10 <sup>-2</sup> (1.35×10 <sup>-2</sup> ~2.31×10 <sup>-2</sup> )	1.28×10 <sup>-2</sup> (1.11×10 <sup>-2</sup> ~1.56×10 <sup>-2</sup> )
呋虫胺	经口 Oral	2.19×10 <sup>-3</sup> (1.70×10 <sup>-3</sup> ~3.14×10 <sup>-3</sup> )	1.82×10 <sup>-3</sup> (1.43×10 <sup>-3</sup> ~2.46×10 <sup>-3</sup> )
Dinotefuran	接触 Contact	14.2×10 <sup>-2</sup> (10.2×10 <sup>-2</sup> ~26.5×10 <sup>-2</sup> )	9.85×10 <sup>-2</sup> (7.63×10 <sup>-2</sup> ~15.4×10 <sup>-2</sup> )
吡虫啉	经口 Oral	3.20×10 <sup>-2</sup> (1.69×10 <sup>-2</sup> ~11.1×10 <sup>-2</sup> )	1.78×10 <sup>-2</sup> (1.12×10 <sup>-2</sup> ~3.72×10 <sup>-2</sup> )
Imidacloprid	接触 Contact	11.8×10 <sup>-2</sup> (8.59×10 <sup>-2</sup> ~16.4×10 <sup>-2</sup> )	6.43×10 <sup>-2</sup> (4.16×10 <sup>-2</sup> ~8.74×10 <sup>-2</sup> )
氯噻啉	经口 Oral	83.5×10 <sup>-2</sup> (57.6×10 <sup>-2</sup> ~174)	56.4×10 <sup>-2</sup> (40.9×10 <sup>-2</sup> ~95.5×10 <sup>-2</sup> )
Imidaclothiz	接触 Contact	11.6(4.95~99.1)	2.05(1.13~3.18)
烯啶虫胺	经口 Oral	4.68×10 <sup>-2</sup> (2.95×10 <sup>-2</sup> ~6.76×10 <sup>-2</sup> )	4.36×10 <sup>-2</sup> (2.76×10 <sup>-2</sup> ~6.23×10 <sup>-2</sup> )
Nitenpyram	接触 Contact	43.9×10 <sup>-2</sup> (35.4×10 <sup>-2</sup> ~63.1×10 <sup>-2</sup> )	21.1×10 <sup>-2</sup> (16.9×10 <sup>-2</sup> ~29.1×10 <sup>-2</sup> )
氟啶虫胺胍	经口 Oral	18.7×10 <sup>-2</sup> (12.6×10 <sup>-2</sup> ~38.6×10 <sup>-2</sup> )	10.5×10 <sup>-2</sup> (8.12×10 <sup>-2</sup> ~15.3×10 <sup>-2</sup> )
Sulfoxaflor	接触 Contact	58.5×10 <sup>-2</sup> (47.6×10 <sup>-2</sup> ~80.6×10 <sup>-2</sup> )	35.3×10 <sup>-2</sup> (30.5×10 <sup>-2</sup> ~41.4×10 <sup>-2</sup> )
噻虫啉	经口 Oral	2.83(2.32~4.24)	2.57 (1.94~3.75)
Thiacloprid	接触 Contact	13.9(11.7~17.4)	9.85(8.23~11.6)
噻虫嗪	经口 Oral	1.75×10 <sup>-3</sup> (1.41×10 <sup>-3</sup> ~2.42×10 <sup>-3</sup> )	1.73×10 <sup>-3</sup> (1.37×10 <sup>-3</sup> ~2.45×10 <sup>-3</sup> )
Thiamethoxam	接触 Contact	2.79×10 <sup>-2</sup> (2.33×10 <sup>-2</sup> ~3.59×10 <sup>-2</sup> )	1.74×10 <sup>-2</sup> (1.52×10 <sup>-2</sup> ~2.14×10 <sup>-2</sup> )
氟啶虫酰胺	经口 Oral	>100	>100
Flonicamid	接触 Contact	>100	>100
吡蚜酮	经口 Oral	>100	>100
Pymetrozine	接触 Contact	>100	>100

2.4 风险评价

在喷施场景下,通过中国农药信息网农药登记信息数据库,查询各农药在我国登记的田间单次最高喷雾施用剂量,与饲喂管法和点滴法测得的 48 h-LD<sub>50</sub> 计算可得 11 种农药对蜜蜂的 RQ<sub>sp</sub> 见表 2。11 种农药对蜜蜂的经口风险次序为:呋虫胺>噻虫嗪>噻虫胺>吡虫啉>烯啶虫胺>氟啶虫胺胍>氯噻啉>噻虫啉>啉虫脒>吡蚜酮、氟啶虫酰胺;其对蜜蜂的接触风险次序为:噻虫胺>噻虫嗪>吡虫啉>呋虫胺>烯啶虫胺>氟啶虫胺胍>氯噻啉>啉虫脒>噻虫啉>吡蚜酮、氟啶虫酰胺。其中,噻虫啉、啉虫脒、吡蚜酮、氟啶虫酰胺对蜜蜂的经口与接触 RQ<sub>sp</sub> 值均小于 1,说明这 4 种农药在目前登记的田间最高施用剂量下喷施对蜜蜂的风险可以接受;噻虫胺、呋虫胺、吡虫啉、噻虫嗪、烯啶虫胺、氟啶虫胺胍、氯噻啉对蜜蜂的经口与接触 RQ<sub>sp</sub> 值全部或其最大值大于 1,说明这 7 种新烟碱类农药在目前登

记的田间最高施用剂量下喷施对蜜蜂的风险不可接受。

在土壤或种子处理场景下,由于缺少农药在不同作物的花粉或花蜜中残留值和单只蜜蜂最高日取食量的实测值,故 R<sub>p</sub> 采用默认值 1 mg a.i.·kg<sup>-1</sup> 花粉或花蜜,MFI 采用默认值 0.128 g·蜂<sup>-1</sup>。针对初级效应分析,UF 值采用 10,计算可得 11 种农药对蜜蜂的 RQ<sub>sys</sub> 见表 2。11 种农药对蜜蜂的风险次序为:噻虫嗪>呋虫胺>噻虫胺>吡虫啉>烯啶虫胺>氟啶虫胺胍>氯噻啉>噻虫啉>啉虫脒>吡蚜酮、氟啶虫酰胺。其中,噻虫啉、啉虫脒、吡蚜酮、氟啶虫酰胺对蜜蜂的 RQ<sub>sys</sub> 值均小于 1,说明使用这 4 种农药进行种子包衣或土壤处理对蜜蜂的风险可接受;噻虫胺、呋虫胺、吡虫啉、噻虫嗪、烯啶虫胺、氟啶虫胺胍、氯噻啉对蜜蜂的 RQ<sub>sys</sub> 值均大于 1,说明使用这 7 种新烟碱类农药进行种子包衣或土壤处理仍对蜜蜂具有不可接受的风险。

表 2 11 种农药对蜜蜂的风险商值  
Table 2 Risk quotient of 11 kinds of pesticides to honeybees

农药 Pesticides	田间推荐剂量/(g·hm <sup>-2</sup> ) AR/(g·hm <sup>-2</sup> )	试验类型 Test type	喷施场景 风险商值 RQ <sub>sp</sub>	土壤或种子处理 场景风险商值 RQ <sub>sys</sub>	风险水平 Risk level
噻虫胺 Clothianidin	150	经口 Oral	485	207	不可接受 Unacceptable
		接触 Contact	234		
呋虫胺 Dinotefuran	150	经口 Oral	1 648	703	不可接受 Unacceptable
		接触 Contact	30.5		
吡虫啉 Imidacloprid	150	经口 Oral	169	71.9	不可接受 Unacceptable
		接触 Contact	46.7		
噻虫嗪 Thiamethoxam	78.8	经口 Oral	911	740	不可接受 Unacceptable
		接触 Contact	90.6		
氯噻啉 Imidaclothiz	45	经口 Oral	1.60	2.27	不可接受 Unacceptable
		接触 Contact	0.439		
烯啶虫胺 Nitenpyram	90	经口 Oral	41.3	29.4	不可接受 Unacceptable
		接触 Contact	8.53		
氟啶虫胺胍 Sulfoxaflor	97.5	经口 Oral	18.6	12.2	不可接受 Unacceptable
		接触 Contact	5.52		
啉虫脒 Acetamiprid	90	经口 Oral	0.205	0.146	可接受 Acceptable
		接触 Contact	0.330		
噻虫啉 Thiacloprid	123	经口 Oral	0.957	0.498	可接受 Acceptable
		接触 Contact	0.250		
氟啶虫酰胺 Flonicamid	75	经口 Oral	<0.015	<0.0128	可接受 Acceptable
		接触 Contact	<0.015		
吡蚜酮 Pymetrozine	300	经口 Oral	<0.06	<0.0128	可接受 Acceptable
		接触 Contact	<0.06		

### 3 讨论 (Discussion)

饲喂管法与点滴法是根据农药对蜜蜂的不同作用方式而设计的室内毒性测定方法。饲喂管法用于测定农药对蜜蜂的急性经口毒性,结果模拟反映蜜蜂在取食受污染的花蜜、吐露或花粉等暴露途径后产生的毒性效应;点滴法用于测定农药对蜜蜂的急性接触毒性,结果模拟反映蜜蜂与田间喷施的药液或受污染的植株接触暴露后产生的毒性效应。上述2种暴露方式为农药对蜜蜂造成危害的主要途径,但在实际暴露过程中不同途径所占的权重需要根据实际情况具体分析。

在本试验条件下,未能求出吡蚜酮与氟啶虫酰胺对蜜蜂的 $LD_{50}$ 值,但其急性经口、接触毒性 $LD_{50}$  (48 h)均大于 $100 \mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ ,故对蜜蜂急性毒性为低毒级。对于9种新烟碱类农药,啉虫脒与噻虫啉对蜜蜂的急性经口、接触毒性均为中毒级;噻虫胺、噻虫嗪、吡虫啉、呋虫胺、烯啶虫胺、氟啶虫胺胍对蜜蜂的急性经口、接触毒性均为高毒级;仅氯噻啉对蜜蜂急性经口毒性与接触毒性等级不一致,其急性经口毒性为高毒级,急性接触毒性为中毒级。研究结果表明:仅啉虫脒对蜜蜂的急性经口毒性与急性接触毒性无显著差异,其他8种新烟碱类农药对蜜蜂的急性经口毒性均显著高于其急性接触毒性,并且各农药在急性经口试验染毒后48 h/24 h的毒性效应增加比(1.01~1.80倍)均低于急性接触试验的毒性效应增加比(1.29~5.66倍),可见多数新烟碱类农药对蜜蜂的胃毒毒性效应显著高于触杀毒性效应。

农药在实验室条件下测得的毒性结果,只能相对的表示各农药对蜜蜂的毒性大小,而不能完全客观地反映或评价田间实际施用农药对蜜蜂的危害程度。因此,科学评价农药对蜜蜂的安全性,还必须综合考虑农药的毒理、用量、施药方法和施药时间等因素的影响,并据此做出系统而准确的判断<sup>[23]</sup>。目前,我国采用风险商值法初级评价农药对蜜蜂的风险<sup>[22]</sup>,基于最大风险原则,在本研究的喷施场景中所采用的田间施用剂量均为已取得登记的最高剂量,当经口与接触毒性风险等级不一致时,采用其最高风险水平。由于新烟碱类农药均具有良好的内吸性和长持效性,广泛用于种子包衣、土壤处理及茎叶喷雾等方式防治有害生物。虽然种子包衣和土壤处理可以避免与蜜蜂的直接暴露,但施用后植株迅速内吸并体内传导,蜜蜂在采集花粉、花蜜及吐露的过程中与药剂的间接暴露仍不可避免。故除喷施场景

外,还进行了土壤或种子处理场景下农药对蜜蜂的初级风险评估。结果表明,无论喷施场景还是土壤或种子处理场景中,噻虫胺、呋虫胺、吡虫啉、噻虫嗪、氯噻啉、烯啶虫胺、氟啶虫胺胍7种新烟碱类农药对蜜蜂的风险均不可接受,其他4种农药对蜜蜂的风险均可接受。

除非在已知种子包衣或土壤处理剂量的情况下,有可靠的花粉或花蜜中农药残留量数据,且该值远小于默认 $R_p$ 值时,重新进行该场景下的初级风险评估,确定本评估中 $RQ_{\text{sys}}$ 值大于1的7种新烟碱类农药用于种子包衣和土壤处理时对蜜蜂的风险可接受。否则对于 $RQ$ 值大于1的7种新烟碱类农药,需进一步通过半田间、田间等高层次的风险评估试验系统地评价其对蜜蜂的危害。在未通过高层次风险评估试验确定其风险为可接受之前,应禁止噻虫胺、呋虫胺、吡虫啉、噻虫嗪、烯啶虫胺、氟啶虫胺胍及氯噻啉7种新烟碱类农药在蜜源作物上使用,可选用对蜜蜂风险低的噻虫啉、啉虫脒、吡蚜酮、氟啶虫酰胺进行替代。

近年来,新烟碱类农药对蜜蜂等授粉昆虫的危害越来越引起世界范围的关注,多个国家陆续开展了再评价工作或提出禁限用措施。美国从2008年开始陆续启动了吡虫啉、啉虫脒、噻虫啉、噻虫胺、呋虫胺、噻虫嗪6种新烟碱类农药的再评价工作;欧盟委员会宣布从2013年12月1日起限制吡虫啉、噻虫嗪、噻虫胺在夏季谷物类作物和蜜源作物上使用;加拿大、巴西也陆续开始对吡虫啉、噻虫嗪、噻虫胺3种新烟碱类农药进行重新评估;我国从2013年开始,也加强了新烟碱类农药对蜜蜂影响的监测工作,启动其在蜜源作物和无限花序作物上使用对蜜蜂的半田间风险评估研究,以达到降低或避免其对蜜蜂等授粉昆虫影响的目的<sup>[24-26]</sup>。

为了更好地保护蜜蜂等授粉昆虫,在对蜜蜂具有不可接受风险的新烟碱类农药进行再评价或高层次风险评估的同时,对处于风险可接受水平的噻虫啉、啉虫脒等新烟碱类农药,仍需进一步研究其对蜜蜂的慢性毒性及生长发育、行为、生理等方面的亚致死效应。

**通讯作者简介:**赵学平(1969-),男,研究员,主要研究方向为农药应用及环境安全性评价研究,发表学术论文130余篇。

### 参考文献 (References):

- [1] Kearns C A, Inouye D W, Waser N M. Endangered mutu-

- alism: The conservation of plant-pollinator interactions [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 2003, 29 (1): 83-112
- [2] 丁悦, 刘敏, 严海娟, 等. 噻虫胺及其混配制剂对意大利蜜蜂和玉米螟赤眼蜂的急性毒性[J]. 昆虫学报, 2015, 58(9): 1030-1036
- Ding Y, Liu M, Yan H J, et al. Acute toxicity of clothianidin and its mixtures to *Apis mellifera ligustica* (Hymenoptera: Apidae) and *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2015, 58(9): 1030-1036 (in Chinese)
- [3] 代平礼, 王强, 孙继虎, 等. 农药对蜜蜂行为的影响[J]. 昆虫知识, 2009, 46(6): 855-860
- Dai P L, Wang Q, Sun J H, et al. Effects of pesticides on honeybee behaviours [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2009, 46(6): 855-860 (in Chinese)
- [4] Iwasa T, Motoyama N, Ambrose J T, et al. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera* [J]. Crop Protection, 2004, 23 (5): 371-378
- [5] Oerke E C, Dehne H W. Safeguarding production—Losses in major crops and the role of crop protection [J]. Crop Protection, 2004, 23(4): 275-285
- [6] Claudianos C, Ranson H, Johnson R M, et al. A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee [J]. Insect Molecular Biology, 2006, 15(5): 615-636
- [7] Elbert A, Haas M, Springer B, et al. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection [J]. Pest Management Science, 2008, 64(11): 1099-1105
- [8] Matsuda K, Buckingham S D, Kleier D, et al. Neonicotinoids: Insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors [J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2001, 22(11): 573-580
- [9] Jeschke P, Nauen R. Neonicotinoids—From zero to hero in insecticide chemistry [J]. Pest Management Science, 2008, 64(11): 1084-1098
- [10] 王建军, 韩召军, 王萌长. 新烟碱类杀虫剂毒理学研究进展[J]. 植物保护学报, 2001, 28(2): 178-182
- Wang J J, Han Z J, Wang M C. A review on the toxicology of new nicotinyl insecticides [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2001, 28(2): 178-182 (in Chinese)
- [11] 罗其花, 彭文君, 安建东, 等. 蜂群衰竭失调病(CCD)致病因子分析及我国的应对措[J]. 昆虫知识, 2008, 45(6): 991-995
- Luo Q H, Peng W J, An J D, et al. The potential causes of Colony Collapse Disorder (CCD) and its countermeasures in China [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2008, 45 (6): 991-995 (in Chinese)
- [12] Vanengelsdorp D, Meixner M D. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2011, 103(Suppl. 1): S80-S95
- [13] Farooqui T. A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: A unique hypothesis [J]. Neurochemistry International, 2013, 62(1): 122-136
- [14] Stokstad E. The case of the empty hives [J]. Science, 2007, 316(5827): 970-972
- [15] Joseph J R, Ameline A, Couty A. Effects on the aphid parasitoid *Aphidius ervi* of an insecticide (Plenum®, pymetrozine) specific to plant-sucking insects [J]. Phytoparasitica, 2011, 39(1): 35-41
- [16] Morita M, Yoneda T, Akiyoshi N. Research and development of a novel insecticide, flonicamid [J]. Journal of Pesticide Science, 2014, 39(3): 179-180
- [17] Morita M, Ueda T, Yoneda T, et al. Flonicamid, a novel insecticide with a rapid inhibitory effect on aphid feeding [J]. Pest Management Science, 2007, 63(10): 969-973
- [18] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). OECD guidelines for the testing of chemicals, No.213: honeybees, acute oral toxicity test [S]. Paris: OECD, 1998
- [19] 中华人民共和国农业部. 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
- Ministry of Agriculture of China. GB/T 31270.10-2014, Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides, Part 10: Honeybee acute toxicity test [S]. Beijing: China Standard Press, 2014 (in Chinese)
- [20] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). OECD guidelines for the testing of chemicals, No.214: Honeybees, acute contact toxicity test [S]. Paris: OECD, 1998
- [21] Prabhaker N, Castle S J, Naranjo S E, et al. Compatibility of two systemic neonicotinoids, imidacloprid and thiamethoxam, with various natural enemies of agricultural pests [J]. Journal of Economic Entomology, 2011, 104(3): 773-781
- [22] 中华人民共和国农业部. NY/T 2882.4—2016, 农药登记环境风险评估指南, 第4部分: 蜜蜂[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016
- Ministry of Agriculture of China. NY/T 2882.4-2016, Guidance on environmental risk assessment for pesticide registration, Part 4: Honeybees [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2016 (in Chinese)

- [23] 罗术东, 安建东, 李继莲, 等. 化学农药对蜜蜂的急性毒性测定方法与危害评价[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2009, 35(3): 320-324
- Luo S D, An J D, Li J L, et al. Hazard assessment and methods to measure the acute toxicity of chemical pesticides to bees [J]. Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences, 2009, 35(3): 320-324 (in Chinese)
- [24] 蔺哲广, 孟飞, 郑火青, 等. 新烟碱类杀虫剂对蜜蜂健康的影响[J]. 昆虫学报, 2014, 57(5): 607-615
- Lin Z G, Meng F, Zheng H Q, et al. Effects of neonicotinoid insecticides on honeybee health [J]. Acta Entomologica Sinica, 2014, 57(5): 607-615 (in Chinese)
- [25] 段丽芳, 李贤宾, 柯昌杰, 等. 欧盟新烟碱类农药限用政策对我国农药相关产业的风险分析[J]. 农药科学与管理, 2013, 34(9): 15-20
- Duan L F, Li X B, Ke C J, et al. Risk evaluation of implications of EU' s policy on the restriction of use of neonicotinoids to domestic pesticide industry[J]. Pesticide Science and Administration, 2013, 34(9): 15-20 (in Chinese)
- [26] 李贝贝, 侯春生, 刁青云. 新烟碱类农药对蜜蜂的危害[J]. 中国蜂业, 2016, 67(8): 31-35
- Li B B, Hou C S, Diao Q Y. Neonicotinoid pesticides severely affect honey bee [J]. Apiculture of China, 2016, 67(8): 31-35 (in Chinese) ◆