

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2022.01.001

拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂的毒性和影响

刘文斌^{1,2}, 段辛乐^{1,2}, 夏晓峰^{3,4}, 黄少康^{1,2*}
¹福建农林大学动物科学学院(蜂学学院), 福建 福州 350002; ²农业农村部(福建)蜜蜂生物学
科学观测站, 福建 福州 350002; ³福建农林大学应用生态研究所, 福建 福州 350002;
⁴农业农村部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福建 福州 350002

摘要: 蜜蜂是最重要的农业授粉昆虫之一, 蜜蜂在授粉过程中极有可能接触到广泛使用的广谱杀虫剂-拟除虫菊酯, 大多数拟除虫菊酯对蜜蜂等农业授粉昆虫有较高的毒性。本文对拟除虫菊酯类杀虫剂的作用机理进行了综述; 总结了蜂群及蜂产品中拟除虫菊酯类杀虫剂的残留现状、拟除虫菊酯对蜜蜂的急性毒性以及亚致死效应, 讨论了拟除虫菊酯类杀虫剂复配农药对蜜蜂的影响。认为: 一方面要加强害虫的综合防控和绿色防控手段, 用环境友好型的生物农药替换化学农药, 合理科学地使用; 另一方面, 应加速研发高效防治靶标害虫以及对蜜蜂低毒或无毒的高度选择性杀虫剂, 以保障蜜蜂授粉安全。
关键词: 拟除虫菊酯类杀虫剂; 蜜蜂; 农药残留; 毒性; 亚致死效应



开放科学标识码
(OSID 码)

Toxicity and sublethal effects of pyrethroids on honey bees

LIU Wenbin^{1,2}, DUAN Xinle^{1,2}, XIA Xiaofeng^{3,4}, HUANG Shaokang^{1,2*}
¹College of Animal Science (College of Bee Science), Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;
²Honeybee Biology Observation Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs (Fujian), Fuzhou, Fujian 350002, China;
³Institute of Applied Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;
⁴Key Laboratory of Integrated Pest Management for Fujian-Taiwan Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China

Abstract: Honey bees are among the most important pollinators in agriculture. Pyrethroids are an important class of broad-spectrum insecticides that are often highly toxic to pollinators such as honey bees. This article summarizes the mode of action of pyrethroids to insects. Reports of pyrethroid residues in colonies and hive products, the acute toxicity of these compounds to honey bees, and their sublethal effects are reviewed. The effects of mixed-pesticide formulations containing pyrethroids on honey bees are discussed. Therefore, to ensure the safe of honey bee pollination, strengthening the comprehensive and green means of pest control, replacing chemical pesticides with environment-friendly biological pesticides, and using reasonably and scientifically are necessary; accelerating the research and development of insecticides with high efficiency to target pests and those with highly selective to pests but low or non toxic to honey bees are needed too.

Key words: pyrethroids; honey bee; pesticide residue; toxicity; sublethal effects

蜜蜂作为最重要的经济和农业授粉昆虫, 不仅是促进农业增产的重要工具, 也是促进植物生存繁衍、保护物种多样性、维持生态系统平衡的重要成员(褚亚芳和胡福良, 2009)。蜜蜂授粉每年对我国农业生产的贡献值达 3042 亿元(刘朋飞等, 2011)。2006 年以来, 蜂群崩溃失调症(colony collapse disorder, CCD)在欧美多地暴发, 引发世界关注(Oldroyd, 2007)。导致蜂群崩溃的因素很多, 起初认为是以色列急性麻痹病病毒(*Israeli acute paralysis virus*, IAPV)、东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* Hastal 等引起的; 然而, 随着研究的深入, 目前一致认为, 蜂群 CCD 是由多种因素共同作用所致, 其中

农药是最重要的因素之一 (Cox-foster *et al.*, 2007; Higes *et al.*, 2008; Magal *et al.*, 2019)。

农业集约化和对农药的日益依赖意味着蜜蜂等授粉昆虫将长期受到农药的影响 (Goulson *et al.*, 2015)。据统计, 2019 年我国农药累计使用 145.6 万 t, 杀虫剂占比高达 40% (杨益军和张波, 2020)。拟除虫菊酯类杀虫剂作为低毒广谱杀虫剂, 广泛用于水稻 *Oryza sativa* L.、油菜 *Brassica campestris* L.、苹果 *Malus pumila* Mill.、柑橘 *Citrus* spp.、棉花 *Gossypium* spp.、杏 *Prunus armeniaca* L. 等农作物 (陈媛等, 2021; 张波等, 2017)。2014 年, 拟除虫菊酯类杀虫剂销售占全球农药市场份额的 17.0%, 其中占比最大的是高效氯氟氰菊酯 (λ -Cyhalothrin) (陈燕玲, 2016)。而蜂业生产中最重要 2 种农药——氟胺氰菊酯 (tau-fluvalinate) 和氟氯苯氧菊酯 (flumethrin) 也是拟除虫菊酯类农药。

由于拟除虫菊酯类杀虫剂的广泛应用, 它们对蜜蜂、熊蜂等重要授粉昆虫的危害也日益显现 (卜元卿等, 2009)。本文从拟除虫菊酯类杀虫剂的杀虫机制, 对蜜蜂的急性毒性、行为和学习记忆以及生长发育、生理等方面的影响进行了综述, 旨在为后续研究提供理论参考。

1 拟除虫菊酯类杀虫剂作用机理及蜂螨的抗药性

1840 年, 白花除虫菊 *Pyrethrum cinerariifolium* Trevisan 的粉末被发现具有较好的杀虫效果, 从此被大量引种到世界各国 (韩耀宗等, 2008)。但是天然除虫菊暴露在阳光下易失效, 大田应用受了很大限制 (胡志强等, 2002)。基于天然除虫菊酯的结构, 大量化学结构类似的拟除虫菊酯 (pyrethroid) 被不断合成并逐步应用。1949 年, 美国农业部人工合成出首个具杀虫活性的丙烯菊酯 (allethrin), 广泛用于室内杀灭蚊虫; 1972 年, 耐光解又高效杀虫的氯氰菊酯 (permethrin) 也被合成出来, 这是第一个适合大田应用的拟除虫菊酯 (Casida, 2010; Ujihara, 2019)。目前, 人工合成的拟除虫菊酯有 1000 多种, 它们具有广谱杀虫活性, 且对哺乳动物毒性低, 是杀虫剂里的主力 (徐冉等, 2019)。

拟除虫菊酯作用靶标于昆虫的神经系统, 中毒昆虫一般会出现 3 个阶段的症状: 过度兴奋→麻痹→死亡。根据化学结构和中毒症状的不同, 拟除虫

菊酯类杀虫剂分为 I 型和 II 型。I 型拟除虫菊酯不含 α -氰基-3-苯氧苄基 (α -cyano-3-phenoxybenzyl), 如醚菊酯 (etofenprox)、氯氰菊酯、联苯菊酯 (bifenthrin) 等; II 型拟除虫菊酯含 α -氰基-3-苯氧苄基, 如高效氯氟氰菊酯、溴氰菊酯 (δ -methrin)、氟氯苯氧菊酯、氟胺氰菊酯等 (陈梦丽, 2017)。I 型和 II 型拟除虫菊酯对哺乳动物和昆虫均有麻痹作用。其中, I 型拟除虫菊酯使神经细胞的 Na^+ 通道开放时间延长, 突触前膜持续兴奋, 导致动物全身震颤, 并伴有兴奋过度、惊厥、麻痹死亡等症状, 被称为“T (tremor) 综合症”。而 II 型拟除虫菊酯则是通过抑制动作电位的产生从而干扰突触功能 (Lund & Narahashi, 1981), 导致动物共济失调, 并伴有舞蹈病、痉挛及大量唾液分泌, 被称为“CS (choreoathetosis-salivation) 综合症”; 昆虫接触后很快中毒麻痹, 最终死亡 (Nasuti *et al.*, 2003; Vijverberg & Bercken, 1990)。同时, 2 类拟除虫菊酯在 Na^+ 通道尾电流衰减速度上表现不同, II 型拟除虫菊酯比 I 型慢很多, 这有可能是造成不同中毒症状的原因之一 (Kadala *et al.*, 2019; Lund & Narahashi, 1981; Vijverberg & Bercken, 1982)。

哺乳动物中的 Na^+ 通道基因往往是多拷贝的, 且不同组织中的钠离子通道基因还有多态性; 而昆虫的 Na^+ 通道基因通常只有一个, 但通过表达时的可变剪切, 可形成不同的转录本, 从而表现出序列和功能的多态性 (邓登辉等, 2021)。除氟胺氰菊酯和氟氯苯氧菊酯外, 许多拟除虫菊酯对蜜蜂均为高毒。氟胺氰菊酯于 1980 年被研制出时是以外消旋混合物使用的, 后来很快被其中的同分异构体 tau-fluvalinate 替代, 并广泛用于农业害虫和螨的防治。氟胺氰菊酯自 1990 年代初引进我国, 以药物挂片的形式出现, 因使用简便且高效杀螨, 很快替代了市场上原有的三氯杀螨醇、双甲脒等其他类型的杀螨剂, 成为最主要的杀螨剂。它属于 II 型拟除虫菊酯, 对蜜蜂的触杀毒性低而对蜂螨高, 因为它对蜜蜂的电压门控 Na^+ 通道 (the voltage-gated sodium channel, VGSC) 蛋白的亲合性远远低于对狄氏瓦螨 *Varroa destructor* Anderson & Trueman 的 (Wu *et al.*, 2017), 这与 VGSC 的第 933 位氨基酸有关, 在昆虫 Na^+ 通道中, 该位置的氨基酸是半胱氨酸 (C), 而蜂螨中是甘氨酸 (G)、缬氨酸 (V) 或丙氨酸 (A) (O'Reilly *et al.*, 2014)。半胱氨酸空间阻位太大, 阻碍了拟除虫菊酯与 Na^+ 通道的结

合,因此对蜜蜂的毒性很弱;当半胱氨酸被空间阻位更小的G、V、A等氨基酸取代时,拟除虫菊酯与VGSC的结合紧密,使 Na^+ 通道持续开放,导致过度兴奋而死亡,表现出很强的杀螨活性(Field *et al.*, 2017; O'Reilly *et al.*, 2014)。然而,随着氟胺氰菊酯的广泛使用,1991年意大利多个地区的大蜂螨对氟胺氰菊酯产生了抗药性,经过检测,发现其抗药性与细胞色素氧化酶P450活性有关(Hillesheim *et al.*, 1996)。经过近30年的使用,蜂螨对氟胺氰菊酯的抗药性已显著增强。对比抗性螨的VGSC与野生型的发现,在VGSC的IIS4~IIS6区域发生了点突变,其中IIS5的胞嘧啶(C)(3004)替换成了鸟嘌呤(G),导致氨基酸由亮氨酸(L)(1002)变成了缬氨酸(V),苯丙氨酸(F)(1052)突变成了亮氨酸(L),但这些突变是否是导致抗性增强的原因仍有待验证(Hubert *et al.*, 2014)。目前,抗性螨VGSC的点突变并不限于上述几个位点,且突变位点组合具多样性。例如,欧洲抗性螨VGSC蛋白发生了L625V变异(即蛋白第625位氨基酸由野生型的L变异成了V),而美国抗性螨VGSC的突变位点是L925I和L925M(Millán-Leiva *et al.*, 2021)。

昆虫及螨的VGSC蛋白有4个同源重复域I~IV,每个结构域均含有6个跨膜片段:S1~S6。美洲东部熊蜂*Bombus impatiens* Cresson、西方蜜蜂*Apis mellifera* L.、东方蜜蜂*A. cerana* Fabricius、大蜜蜂*A. dosata* Fabricius、小蜜蜂*A. florea* Fabricius等蜂类的VGSC氨基酸序列中,受体外区域的电压传感域IIS2中第841位的苏氨酸(T),离子电导孔隙模块IIS5上第926位的缬氨酸(V),拟除虫菊酯受体I中IIS6第1525位的苯丙氨酸(F)等7个关键位置的氨基酸残基对氯氰菊酯、联苯菊酯、高效氟氯氰菊酯(beta-cyfluthrin)、高效氯氟氰菊酯、氯氰菊酯(cypermethrin)、溴氰菊酯等6种常用拟除虫菊酯高度敏感,但对氟胺氰菊酯不敏感;而蜂螨则不同,由此导致了各种蜂和蜂螨对氟胺氰菊酯的敏感性差异(Wu *et al.*, 2017)。

此外, Ca^{2+} 通道有可能也是拟除虫菊酯类杀虫剂作用靶标之一(Narahashi, 1992)。溴氰菊酯能影响昆虫神经细胞跨膜的T型 Ca^{2+} 通道,引起胞外 Ca^{2+} 内流,使胞内 Ca^{2+} 浓度升高,最终导致神经细胞死亡(牛玉杰等, 2001)。研究表明, $31.25 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溴氰菊酯就会使蜜蜂神经细胞内的游离 Ca^{2+} 浓度快速升高,当浓度高达 $250 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,则会使

Ca^{2+} 过载,导致神经细胞死亡(王强, 2016)。

2 拟除虫菊酯类杀虫剂在蜜蜂及蜂产品中的残留现状

蜜蜂采集被农药污染的花粉及花蜜回巢后,会造成蜂群及其产品中农药的残留。刘琼琼(2019)对我国13个省区214组蜂样中常用的12种农药进行了检测,检出了5种农药,其检出率和检出中值分别为:甲氰菊酯(fenpropathrin) (14.5%, $14.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)、联苯菊酯(4.7%, $63.9 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)、高效氯氟氰菊酯(beta-cypermethrin) (3.7%, $94.4 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)、高效氯氟氰菊酯(1.9%, $144.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)、百菌清(1.4%, $27.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$),其中甲氰菊酯的检出比例最高,高效氯氟氰菊酯蜂体中的残留量最高。Mullin *et al.* (2010)检测了887个蜂蜡、蜂花粉、蜜蜂及蜂箱样本,发现了121种不同的杀虫剂及其代谢物;其中,超过47%的蜂箱样本中残留拟除虫菊酯类杀虫剂。林国斌等(2012)对我国63份蜂蜜样品中10种拟除虫菊酯残留检测发现,溴氰菊酯在20个样品中的残留水平为 $1.1 \sim 4.8 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,少量样品中还检出氰戊菊酯(esfenvalerates)、氯氟氰菊酯(cyhalothrin)以及氟氯氰菊酯(cyfluthrin)。花粉和蜂蜡中杀虫剂的检出频次较杀菌剂和除草剂更高,对蜜蜂的危害更持久,影响更大(Ostiguy *et al.*, 2019)。

西方蜜蜂饲养过程中频繁使用氟胺氰菊酯等杀螨剂,是造成该类拟除虫菊酯在蜂群中残留的原因。为控制药残,2006年,我国原农业部出台了蜂蜜中杀螨剂最高残留限量(MRLs)标准(NY/T 1243-2006),规定蜂蜜中氟胺氰菊酯的最高残留量为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,氟氯苯氰菊酯为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,溴氰菊酯(bromopropylate)为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在法国,其蜂群中氟胺氰菊酯的检出率超过60%,平均残留量为 $196.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($15 \sim 422 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) (Chauzat & Faucon, 2007);我国蜂蜜样品中也曾检出 $1.0 \sim 5.2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的残留(林国斌等, 2012)。与蜂蜜相比,蜂胶中的残留则高得多,氟氯苯氰菊酯在蜂胶中平均残留量为 $2.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (韩爱华, 2007)。由于拟除虫菊酯的亲脂性,使得它易在蜡质巢脾上残留和富集(Lodesani *et al.*, 2008)。使用多年的老巢脾中氟氯苯氰菊酯残留较新巢脾高,流蜜期的残留可达 $0.03 \sim 0.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,个别甚至高达 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (牛新月等, 2019; Rosenkranz *et al.*, 2010)。因此,西方

蜜蜂养蜂生产上及时更替老牌不仅有利于蜂群繁殖,也是减少农药残留的重要措施之一。中华蜜蜂(简称中蜂, *A. cerana cerana* Fabr.)天然抗螨的生物学特性使得中蜂群中不存在该类杀螨剂的残留问题;但由于同样存在环境暴露,大田用的农药残留问题也不容忽视。

3 拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂的急性致死毒性

研究表明,大部分拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂有剧毒(卜元卿等,2009;赵帅等,2011),其对蜜蜂毒性的与蜂种、蜂型、蜂龄、农药剂型和暴露方式等因素紧密相关。氯氟氰菊酯对 2~3 周龄的成年意大利蜜蜂(*A. m. ligustica*, 简称意蜂)工蜂的 24 h 急性触杀的 LD_{50} 为 $0.022 \sim 0.051 \mu\text{g} \cdot \text{头}^{-1}$, 远小于 $2.0 \mu\text{g} \cdot \text{头}^{-1}$ 的高毒剂量,为高毒;对苜蓿切叶蜂 *Megachile rotundata* F. 的毒性更高, LD_{50} 仅为 $0.002 \mu\text{g} \cdot \text{头}^{-1}$ (Mayer *et al.*, 1998)。急性毒性试验测定表明,甲氰菊酯、高效氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、联苯菊酯对意蜂的 LD_{50} 分别是中蜂的 4.0、9.2、1.7、1.8 倍(刘琼琼,2019),说明中蜂工蜂比意蜂工蜂更敏感,这与王瀛寰等(2012)的研究结论相似,进一步证实中蜂更易受毒害,为我国制定相关的农药毒性标准提供了依据。Dahlgren *et al.* (2012) 通过胸部点滴(24 h)氟胺氰菊酯测试,结果表明,意蜂处女王的 LD_{50} 为 $586 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 比工蜂的 $188 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 耐受力高 3.11 倍。

4 拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂的亚致死效应

田间喷洒的拟除虫菊酯类杀虫剂,在多种环境因子的综合作用下,会逐渐降解,但在残效期内,蜜蜂的采集活动还可能暴露在亚致死剂量下,虽不会引起急性死亡,但仍可能引起生理或行为异常的亚致死效应(Desneux *et al.*, 2007)。

4.1 拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂行为及学习记忆的影响

杀虫剂会影响蜜蜂的嗅觉和味觉,进而影响学习、记忆、习惯、导航和定向等认知功能和行为能力(Belzunces *et al.*, 2012)。谷氨酸作为神经系统中主要的兴奋性神经递质,其在神经系统中的细胞分化和突触形成发挥关键作用(Danbolt, 2001)。N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDA, N-methyl-D-aspartate receptor)是谷氨酸发挥作用的关键受体,该受体整体参与引发突触功能的持续变化,从而促成学习和

记忆(Maleszka *et al.*, 2000)。拟除虫菊酯类杀虫剂使蜜蜂的神经系统中与 NMDA 受体相关的 *Nmdar1* 和 *GluRA* 等基因的表达量显著下降(Kucharski *et al.*, 2007),从而降低蜜蜂学习记忆及归巢定位的能力(卜元卿等, 2009; 陈福俊等, 2003; 袁安等, 2016)。Wu *et al.* (2021) 连续给刚出房意蜂工蜂饲喂亚致死剂量的氟氯苯氰菊酯 7 d, 当剂量达 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上时, 20 日龄工蜂在 2 km 外放飞的回巢率显著降低。亚致死剂量的氟氯苯氰菊酯连续饲喂意蜂工蜂 14 d, 工蜂会表现出明显的中毒症状, 初期烦躁不安, 饲养笼内乱飞, 之后行动迟缓、无法站立、颤抖、互相打斗等, 且饲喂了 $0.001 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 氟氯苯氰菊酯的工蜂, 日进食含糖水量显著增加, 有可能导致其中毒加深(牛新月, 2019)。同时, 拟除虫菊酯类杀螨剂会影响蜜蜂的学习和记忆能力, 干扰跳舞行为, 使得蜂巢定位出错, 降低采集力(杨爽和谭昱, 2011)。用 $1/2 LD_{50}$ 剂量的高效氯氟氰菊酯点滴意蜂工蜂背板, 可使工蜂的嗅觉学习记忆能力显著降低(张波等, 2017)。

4.2 拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂生长发育的影响

蜜蜂幼虫取食杀虫剂污染的花蜜和花粉, 生长发育会受到不良影响(Desneux *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2014)。何其宝(2020)将含有高效氯氟氰菊酯(0.3235 和 $1.2253 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)的饲料分别连续饲喂 4 日龄中蜂和意蜂幼虫 72 h 后, 幼虫死亡率均较对照组显著升高; 与意蜂相比, 中蜂幼虫的死亡率显著提高, 化蛹率和羽化率均显著降低, 说明中蜂对比意蜂更敏感, 更易受毒害。亚致死剂量的氟氯苯氰菊酯会严重影响意蜂幼虫发育, 导致幼虫发育迟缓、体色变暗、身体变瘪、食量下降等; $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氟氯苯氰菊酯处理后可使化蛹率下降 24.40%, 羽化率下降 30.38%, 羽化蜂出现残翅、复眼发育不全、体型娇小等畸形现象(赵学平等, 2008)。连续饲喂意蜂幼虫 LC_5 的联苯菊酯、溴氰菊酯直至幼虫封盖, 可显著延长工蜂的发育历期, 且显著降低幼虫封盖率和羽化率(王强, 2016)。

蜂群中常用的拟除虫菊酯类杀螨剂对蜂王有不良影响, 导致其产卵量下降(Jong *et al.*, 1982)。Haarmann *et al.* (2002) 研究发现, 蜂王暴露于氟胺氰菊酯 10 d 后, 其体重、卵巢重量及受精囊中的精子数量均减少, 产卵力下降。将 LC_5 的联苯菊酯、溴氰菊酯和氟胺氰菊酯每天定量($5 \mu\text{L}$)饲喂产卵

蜂王,连续饲喂 21 d 后,蜂王产卵量极显著降低,但卵的千粒重未受显著影响(王强,2016)。西方蜜蜂长期暴露在高效率氯氟氰菊酯下,其大脑、咽下腺以及肠道都受到了一定程度的影响。亚致死浓度($LC_{50}/100$)的高效率氯氟氰菊酯药液连续饲喂成年工蜂 8 d 后,大脑中的神经纤维、细胞体以及蕈状体中均产生了大量的间隙;咽下腺受损严重,腺细胞的粗面内质网形态改变,细胞死亡;虽然该药液对中肠无显著影响,但后肠管腔细胞线粒体基质缺失,管腔内有细胞碎片(Arthidoro *et al.*, 2020)。雄蜂接触氟胺氰菊酯后,其精子数量和精子活力均明显下降,卵的受精及蜂王产卵的质量也受影响(Burley *et al.*, 2008; Sylvester *et al.*, 1999)。

4.3 拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂生理的影响

为应对拟除虫菊酯类杀虫剂的胁迫,蜜蜂体内的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等保护酶,以及细胞色素氧化酶 CYP450、羧酸酯酶(carboxylesterase, CarE)、谷胱甘肽转移酶(glutathione transferase, GST)等解毒酶都参与了分解代谢(王康等,2017; 张祖芸等,2021; Ross *et al.*, 2006)。用含不同浓度($0.5, 5, 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)氟胺氰菊酯的糖水连续饲喂 2 日龄意蜂蜂幼虫直至封盖, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组的刚封盖幼虫的 SOD 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度组的 CYP450 活性均显著升高(廖春华, 2019; Wu *et al.*, 2021)。氟氯苯氰菊酯连续饲喂意蜂成年工蜂,其腹部组织中的谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、POD、CAT、GST 等酶的活性在 7 d 时的变化水平显著高于 14 d 时的酶活变化水平($P < 0.05$),工蜂头部 AChE 的活性升高了 61.54%(牛新月,2019),说明不同日龄工蜂的解毒能力存在差异。拟除虫菊酯类杀虫剂亦影响蜜蜂体内免疫基因的表达。连续饲喂 5 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的氟胺氰菊酯后,工蜂体内抗菌肽基因 *Hymenoptaecin* 表达量显著升高(廖春华,2019)。

蜜蜂体内肠道微生物群落对维持蜜蜂健康稳定具有重要意义(Hamdi *et al.*, 2011)。亚致死剂量氟胺氰菊酯对意蜂肠道微生物相对丰度及群落结构有影响,其中,0.5 和 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理组引起变形菌门相对丰度显著升高; $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的氟胺氰菊酯会导致肠道微生物中的 *Snodgrassella alvi*、*Commensalibacter intestini*、MX01 等核心菌群相对丰度减少

(廖春华,2019)。

5 杀虫剂复配剂对蜜蜂的影响

随着农业集约化、规模化和产业化发展,农药被广泛用于各种农作物的害虫防治(Raimets *et al.*, 2018),长期的农药选择压力导致害虫抗药性的产生。为了延缓害虫抗药性产生、延长药剂的使用寿命,不同作用机理的杀虫剂被复配,不仅扩大了防治谱,还提高了防治效果。我国登记的杀虫剂复配剂占整个农药复配剂的比例超过 70%,其中,两元复配剂占比超过 70%(朱鲁生等,1997)。但复配农药日益成为影响授粉昆虫健康的一个重要因素(Wang *et al.*, 2020)。朱鲁生等(1999)测定了甲氰菊酯-辛硫磷复配剂对蜜蜂的急性毒性,毒性大小为甲氰菊酯>复配剂>辛硫磷,其中复配剂的联合系数 K 在 0.5~2.6,这表明甲氰菊酯-辛硫磷复配剂对蜜蜂的急性毒性为相加作用。张艳峰和王会利(2020)研究发现,15%高效氯氟氰菊酯·噻虫嗪悬浮剂以及 10%高效氯氟氰菊酯·噻虫胺悬浮剂 2 种复配剂较单剂而言,均增强了对意蜂的急性毒性和风险。目前,尚有许多复配剂对蜜蜂的作用不清楚,有待进一步研究。

此外,在蜂箱中可以检测到多种杀菌剂的残留,可能会增加拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂的毒性(Botías *et al.*, 2021)。如:抑霉唑可以增加拟除虫菊酯类杀虫剂对欧洲地熊蜂的毒性(Raimets *et al.*, 2018);Böhme *et al.* (2017)将杀菌剂和氟胺氰菊酯等杀虫剂混合后测试其对蜂群的田间亚致死效应,虽然对幼虫发育和成年工蜂寿命无显著影响,但哺育蜂咽下腺的腺泡直径显著低于对照组。

6 展望

拟除虫菊酯类杀虫剂以其高效低毒在农业生产中得到广泛应用,但它对蜜蜂等非靶标生物的影响也不容忽视。目前,有关多种拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂的影响已有不少研究,主要集中于室内的急性毒性,以及对蜜蜂行为和学习记忆、生长发育、生理等方面的亚致死效应;少数研究者还在田间用药环境下,对蜜蜂等授粉昆虫的影响进行了测试,为指导农药的安全使用提供了重要依据。随着分子生物学技术和计算机建模技术的发展,华中师范大学的科研团队建立了基于农药化学结构预测其对蜜蜂毒性的 BeeTox 平台(<http://chemyang.ccnu>。

edu.cn/ccb/ server/beetox/index.php/home/index), 为合理使用农药提供了参考。

农药种类繁多,越来越多的复配剂被使用,由于剂型、剂量、施用方式不一,多种农药可能存在累加效应,田间情形更为复杂。蜜蜂农药中毒事件时有发生,野生授粉昆虫种群数量也受到很大影响。授粉昆虫的减少导致农作物授粉不足,农药的大量使用也促使害虫抗性增加。因此,一方面要加强害虫的综合防控和绿色防控手段,用环境友好型的生物农药替换化学农药,合理科学地使用;另一方面,根据蜜蜂和其他生物 Na^+ 通道结构的差异,加速研发高效防治靶标害虫以及对蜜蜂低毒或无毒的高度选择性杀虫剂。另外,拟除虫菊酯类杀虫剂作为最广泛应用的农药,应明确它与其他农药复配对蜜蜂的影响,为蜜蜂授粉安全提供参考。

参考文献

卜元卿,单正军,周军英,林小丽,2009. 农药对蜜蜂生物毒性及安全性评价研究回顾. 农药, 48(6): 399-401, 426.

陈福俊,何德富,周绍慈,2003. D-Ser-NMDA 受体的新调控因子. 中国神经科学杂志, 19(2): 127-129.

陈梦丽,2017. 基于钠离子通道突变体的拟除虫菊酯杀虫剂抗性的机理研究. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学.

陈燕玲,2016. 2014 年世界杀虫剂市场概况. 现代农药, 15(2): 1-7, 27.

陈媛,赖鲸慧,张梦梅,赵田叶,王松,李建龙,刘书亮,2021. 拟除虫菊酯类农药在农产品中的污染现状及减除技术研究进展. 食品科学: 1-12. (2021-04-06) [2021-07-13]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210406.1307.014.html>.

褚亚芳,胡福良,2009. 蜜蜂与生态平衡. 蜜蜂杂志, 29(3): 8-10.

邓登辉,段文波,王颢,李芬,吴少英,2021. 拟果蝇钠离子通道基因克隆及其生物信息学分析. 中国生物防治学报, 37(2): 340-348.

韩爱华,2007. 氯氰菊酯和氟氯苯氧菊酯免疫分析化学研究. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学.

韩耀宗,朱国念,廖晓兰,陆小磊,金绍强,2008. 拟除虫菊酯农药的毒性研究综述. 世界农药, 30(3): 34-35.

何其宝,2020. 高效氯氟菊酯和灭幼脲对意大利蜜蜂和中华蜜蜂幼虫生长发育及生理影响的比较研究. 硕士学位论文. 合肥: 安徽农业大学.

胡志强,任雪景,郭玉晶,2002. 拟除虫菊酯类杀虫剂的研究进展. 青岛化工学院学报(自然科学版), 23(1): 48-51.

廖春华,2019. 氟胺氰菊酯对西方蜜蜂幼虫发育、工蜂生存能力及肠道菌群的影响. 硕士毕业论文. 南昌: 江西农业大学.

林国斌,倪蕾,林升清,2012. 气相色谱法测定蜂蜜中 10 种拟除虫菊酯类农药残留. 中国食品卫生杂志, 24(2): 116-119.

刘朋飞,吴杰,李海燕,林素文,2011. 中国农业蜜蜂授粉的经济价值评估. 中国农业科学, 44(24): 5117-5123.

刘琼琼,2019. 拟除虫菊酯类农药对意大利蜜蜂和中华蜜蜂的急性毒性及酶活性的影响. 硕士学位论文. 合肥: 安徽农业大学.

牛新月,2019. 氟氯苯氧菊酯对意大利蜜蜂 (*Apis mellifera ligustica* L.) 的毒性作用研究. 硕士学位论文. 新乡: 河南科技学院.

牛新月,齐素贞,吴黎明,薛晓锋,张中印,石明旺,2019. 氟氯苯氧菊酯在蜂产品中的残留及检测技术研究进展. 河南科技学院学报(自然科学版), 47(2): 24-29, 43.

牛玉杰,石年,李龙,刘毓谷,2001. 溴氰菊酯对大鼠神经细胞内游离钙的影响. 卫生毒理学杂志, 15(4): 216-219.

王康,庞倩,张文文,吉挺,2017. 多菌灵亚致死剂量对意大利蜜蜂幼虫生长发育和解毒酶系活性的影响. 昆虫学报, 60(6): 642-649.

王强,2016. 菊酯类杀虫剂对意大利蜜蜂神经细胞影响的生化及分子机制的研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学.

王瀛寰,张艳峰,张旭,李建中,王会利,2012. 五种农药对中华蜜蜂和意大利蜜蜂工蜂的经口毒性比较. 农药学报, 14(4): 453-456.

徐冉,魏宁,黄虹,崔婧媛,李风亭,2019. 天然除虫菊酯与拟除虫菊酯的对比及发展建议. 环境污染与防治, 41(9): 119-124.

杨爽,谭垦,2011. 杀螨剂残留对蜜蜂生理和行为的影响. 蜜蜂杂志, 31(2): 7-8.

杨益军,张波,2020. 2020 年中国农药行业展望及市场预测. 世界农药, 42(2): 1-8.

袁安,郭亚惠,吴小波,黄晓,廖春华,2016. 饲料蛋白质水平对意大利蜜蜂归巢能力及记忆相关基因表达的影响. 动物营养学报, 28(1): 296-302.

张波,廖春华,胡景华,吴小波,2017. 高效氯氟菊酯对西方蜜蜂生存能力及记忆相关特性的影响. 昆虫学报, 60(2): 189-196.

张艳峰,王会利,2020. 16 种农药制剂对意大利蜜蜂的急性毒性及初级风险评估. 生态毒理学报, 15(6): 271-278.

张祖芸,李震,吴志豪,黄强,曾志将,2021. 2 种杀虫剂对舞蹈蜜蜂大脑转录组中可变剪切的影响. 江西农业大学学报, 43(1): 175-181.

赵帅,袁善奎,才冰,姜辉,王晓军,林荣华,瞿唯刚,张

- 招荣, 2011. 300 个农药制剂对蜜蜂的急性经口毒性. *农药*, 50(4): 278–280.
- 赵学平, 苍涛, 陈超, 吴长兴, 陈丽萍, 吴声敢, 俞瑞鲜, 王强, 2008. 几种农药对蜜蜂毒性与安全性评价研究. *浙江农业科学* (6): 748–750.
- 朱鲁生, 李光德, 冯玲, 姜士聚, 1997. 我国农药混合剂的发展现状研究. *山东农业大学学报*, 28(3): 123–128.
- 朱鲁生, 王桂芝, 徐玉新, 1999. 甲氰菊酯、辛硫磷及其混剂对蜜蜂毒性及影响. *农业环境保护*, 18(4): 165–167.
- ARTHIDORO D C M B, MARTINEZ L C, COSSOLIN J F S, SERRA R S, SERRAO J E, 2020. Cytotoxic effects on the midgut, hypopharyngeal, glands and brain of *Apis mellifera* honey bee workers exposed to chronic concentrations of lambda-cyhalothrin. *Chemosphere*, 248: 126075.
- BELZUNCES L P, TCHAMITCHIAN S, BRUNET J L, 2012. Neural effects of insecticides in the honey bee. *Apidologie*, 43(3): 348–370.
- BÖHME F, BISCHOFF G, ZEBITZ C P W, ROSENKRANZ P, WALLNER K, 2017. Chronic exposure of honeybees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), to a pesticide mixture in realistic field exposure rates. *Apidologie*, 48(3): 353–363.
- BOTÍAS C, JONES J C, PAMMINGER T, BARTOMEUS I, HUGHES W O H, GOULSON D, 2021. Multiple stressors interact to impair the performance of bumblebee *Bombus terrestris* colonies. *Journal of Animal Ecology*, 90(2): 415–431.
- BURLEY L M, FELL R D, SAACKE R G, 2008. Survival of honey bee (Hymenoptera: Apidae) spermatozoa incubated at room temperature from drones exposed to miticides. *Journal of Economic Entomology*, 101(4): 1081–1087.
- CASIDA J E, 2010. Michael Elliott's billion dollar crystals and other discoveries in insecticide chemistry. *Pest Management Science*, 66(11): 1163–1170.
- CHAUZAT M P, FAUCON J P, 2007. Pesticide residues in beeswax samples collected from honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) in France. *Pest Management Science*, 63(11): 1100–1106.
- COX-FOSTER D L, CONLAN S, HOLMES E C, PALACIOS G, EVANS J D, MORAN N A, QUAN P L, BRIESE T, HORNIG M, GEISER D M, MARTINSON V, VANENGELS DORP D, KALKSTEIN A L, DRYSDALE A, HUI J, ZHAI J, CUI L, HUTCHISON S K, SIMONS J F, EGHOLM M, PETTIS J S, LIPKIN W L, 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318: 283–287.
- DAHLGREN L, JOHNSON R M, SIEGFRIED B D, ELLIS M D, 2012. Comparative toxicity of acaricides to honey bee (Hymenoptera: Apidae) workers and queens. *Journal of Economic Entomology*, 105: 1895–1902.
- DANBOLT N C, 2001. Glutamate uptake. *Progress in Neurobiology*, 65(1): 1–105.
- DESNEUX N, DECOURTYE A, DELPUECH J M, 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52(1): 81–106.
- FIELD L M, DAVIES T G E, O'REILLY A O, WILLIAMSON M S, WALLACE B A, 2017. Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides. *European Biophysics Journal*, 46(7): 675–679.
- GOULSON D, NICHOLLS E, BOTÍAS C, ROTHERAY E L, 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347: 1435.
- HAARMANN T, SPIVAK M, WEAVER D, WEAVER B, GLENN T, 2002. Effects of fluvalinate and coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) in two commercial queen rearing operations. *Journal of Economic Entomology*, 95(1): 28–35.
- HAMDI C, BALLOI A, ESSANAA J, CROTTI E, GONELLA E, RADDADI N, RICCI I, BOUDABOUS A, BORIN S, MANINO A, BANDI C, ALMA A, DAFFONCHIO D, CHERIF A, 2011. Gut microbiome dysbiosis and honeybee health. *Journal of Applied Entomology*, 135(7): 524–533.
- HIGES M, MARTÍN-HERNÁNDEZ R, BAILÓN E G, GONZÁLEZ-PORTO A V, BARRIOS L, NOZAL M J D, BERNAL J L, JIMÉNEZ J J, PALENCIA P G, MEANA A, 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology*, 10: 2659–2669.
- HILLESHEIM E, RITTER W, BASSAND D, 1996. First data on resistance mechanisms of *Varroa jacobsoni* (Oud.) against tau-fluvalinate. *Experimental and Applied Acarology*, 20(5): 283–296.
- HUBERT J, NESVORNA M, KAMLER M, KOPECKY J, TYL J, TITERA D, STARA J, 2014. Point mutations in the sodium channel gene conferring tau-fluvalinate resistance in *Varroa destructor*. *Pest Management Science*, 70(6): 889–894.
- JONG D D E, JONG P H D, GONÇALVES L S, 1982. Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research*, 21(3): 165–167.
- KADALA A, CHARRETON M, CHARNET P, CENS T, ROUSSET M, CHAHINE M, VAISSIÈRE B E, COLLET C, 2019. Voltage-gated sodium channels from the bees *Apis mellifera* and *Bombus terrestris* are differentially modulated by pyrethroid insecticides. *Scientific Reports*, 9(1): 1078.

- KUCHARSKI R, MITRI C, GRAU Y, MALESZKA R, 2007. Characterization of a metabotropic glutamate receptor in the honeybee (*Apis mellifera*) implications for memory formation. *Invertebrate Neuroscience*, 7(2): 99–108.
- LODESANI M, COSTA C, SERRA G, COLOMBO R, SABATINI A G, 2008. Acaricide residues in beeswax after conversion to organic beekeeping methods. *Apidologie*, 39(3): 324–333.
- LUND A E, NARAHASHI T, 1981. Interaction of DDT with sodium channels in squid giant axon membranes. *Neuroscience*, 6(11): 2253–2258.
- MAGAL P, WEBB G F, WU Y, 2019. An environmental model of honey bee colony collapse due to pesticide contamination. *Bulletin of Mathematical Biology*, 81: 4908–4931.
- MALESZKA R, HELLIWELL P, KUCHARSKI R, 2000. Pharmacological interference with glutamate re-uptake impairs long-term memory in the honeybee, *Apis mellifera*. *Behavioural Brain Research*, 115(1): 49–53.
- MILLÁN-LEIVA A, MARÍN Ó, CHRISTMON K, VANENGELSDORP D, GONZÁLEZ-CABRERA J, 2021. Mutations associated with pyrethroid resistance in *Varroa mite*, a parasite of honey bees, are widespread across the United States. *Pest Management Science*, 77(7): 3241–3249.
- MULLIN C A, FRAZIER M, FRAZIER J L, ASHCRAFT S, SIMONDS R, VANENGELSDORP D, PETTIS J S, 2010. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE*, 5(3): e9754.
- NARAHASHI T, 1992. Nerve membrane Na⁺ channels as targets of insecticides. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13(6): 236–241.
- NASUTI C, CANTALAMESSA F, FALCIONI G, GABBIANELLI R, 2003. Different effects of type I and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. *Toxicology*, 191(2/3): 233–244.
- OLDROYD B P, 2007. What's killing American honey bees. *PLOS Biology*, 5(6): e168.
- O'REILLY A O, MARTIN, WILLIAMSON M S, GONZÁLEZ-CABRERA J, TURBERG A, FIELD L M, WALLACE B A, DAVIES T G E, 2014. Predictive 3D modelling of the interactions of pyrethroids with the voltage-gated sodium channels of ticks and mites. *Pest Management Science*, 70(3): 369–377.
- OSTIGUY N, DRUMMOND F A, ARONSTEIN K, EITZER B, ELLIS J D, SPIVAK M, SHEPPARD W S, 2019. Honey bee exposure to pesticides: a four-year nationwide study. *Insects*, 10(1): 13.
- RAIMETS R, KARISE R, MÄND M, KAART T, PONTING S, SONG J, CRESSWELL J E, 2018. Synergistic interactions between a variety of insecticides and an ergosterol biosynthesis inhibitor fungicide in dietary exposures of bumble bees (*Bombus terrestris* L.). *Pest Management Science*, 74(3): 541–546.
- ROSENKRANZ P, AUMEIER P, ZIEGELMANN B, 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(1): 96–119.
- ROSS M K, BORAZJANI A, EDWARDS C C, POTTER P M, 2006. Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases. *Biochemical Pharmacology*, 71(5): 657–669.
- SYLVESTER H A, WATTS R P, GUZMAN L D, STELZER J A, RINDERER, 1999. *Varroa* in the mating yard: II. The effects of *Varroa* and fluvalinate on drone mating competitiveness. *American Bee Journal*, 139(3): 225–227.
- UJIHARA K, 2019. The history of extensive structural modifications of pyrethroids. *Journal of Pesticide Science*, 44(4): 215–224.
- VIJVERBERG H P M, BERCKEN J V D, 1982. Action of pyrethroid insecticides on the vertebrate nervous system. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 8(6): 421–440.
- VIJVERBERG H P M, BERCKEN J V D, 1990. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Critical Reviews in Toxicology*, 21(2): 105–126.
- WANG Y, ZHU Y C, LI W, 2020. Comparative examination on synergistic toxicities of chlorpyrifos, acephate, or tetraconazole mixed with pyrethroid insecticides to honey bees (*Apis mellifera* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 27(1): 6971–6980.
- WU S, NOMURA Y, DU Y, ZHOROV B S, DONG K, 2017. Molecular basis of selective resistance of the bumblebee *Bombus terrestris* sodium channel to tau-fluvalinate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(49): 12922.
- WU X B, LIAO C H, HE X J, ZHANG L Z, YAN W Y, ZENG Z J, 2021. Sublethal fluvalinate negatively affect the development and flight capacity of honeybee (*Apis mellifera* L.) workers. *Environmental Research*, 203: 111836.
- ZHU W, SCHMEHL D R, MULLIN C A, FRAZIER J L, 2014. Four common pesticides, their mixtures and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honey bee larvae. *PLoS ONE*, 9(1): e77547.