



王雅琨, 高景林, 韩文素, 等. 10种杀菌剂对中华蜜蜂的急性毒性测定及风险评估 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (1): 126 - 133.

## 10种杀菌剂对中华蜜蜂的急性毒性测定及风险评估

王雅琨<sup>1, 2, 3</sup>, 高景林<sup>2, 3</sup>, 韩文素<sup>2, 3</sup>, 刘俊峰<sup>2, 3</sup>, 王玉洁<sup>2, 3</sup>, 符石成<sup>1</sup>, 赵冬香<sup>2, 3\*</sup>

(1. 海南大学环境与植物保护学院, 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海口 571101;

3. 中国热带农业科学院蜂业技术研究中心, 海口 571101)

**摘要:** 明确 80% 代森锰锌可湿性粉剂、50% 啶酰菌胺水分散型粒剂、50% 腐霉利可湿性粉剂、50% 烯酰吗啉可湿性粉剂、100 g/L 氰霜唑悬浮剂、20% 叶枯唑可湿性粉剂、2% 春雷霉素水剂、12.50% 腈菌唑乳油、25% 丙环唑乳油和 15% 咪鲜胺微乳剂等 10 种杀菌剂对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 工蜂的急性毒性, 并评价其对中华蜜蜂工蜂的风险性。在室内采用摄入法和点滴法测定 10 种杀菌剂对中华蜜蜂工蜂的急性经口和接触毒性。结果表明代森锰锌, 啶酰菌胺, 腐霉利等 7 种杀菌剂对中华蜜蜂的急性毒性均为低毒; 腈菌唑和丙环唑对中华蜜蜂的急性经口毒性和急性接触毒性均为中毒, 咪鲜胺对中华蜜蜂的急性经口毒性为高毒, 急性接触毒性为中毒; 这 3 种杀菌剂且均属于中等风险性。建议禁止咪鲜胺在蜜源作物开花授粉期施用, 慎重选择中等毒性杀菌剂腈菌唑和丙环唑, 尽量选择对蜜蜂低毒的杀菌剂, 以保护中华蜜蜂的安全。

**关键词:** 杀菌剂; 中华蜜蜂; 毒性测定; 风险评估

中图分类号: Q965.9; S89

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2017) 01-0126-08

### Acute toxicity and hazard assessment of 10 fungicides on *Apis cerana cerana*

WANG Ya-Jun<sup>1, 2, 3</sup>, GAO Jing-Lin<sup>2, 3</sup>, HAN Wen-Su<sup>2, 3</sup>, LIU Jun-Feng<sup>2, 3</sup>, WANG Yu-Jie<sup>2, 3</sup>, FU Shi-Cheng<sup>1</sup>, ZHAO Dong-Xiang<sup>2, 3\*</sup> (1. Environment and Plant Protection College, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3. Bee Industry Technology Research Center, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

**Abstract:** The experiments were carried out to determine the acute toxicity of 10 fungicides, namely mancozeb 800 WP, boscalid 500 WG, procymidone 500 WP, dimethomorph 500 WP, cyazofamid 100 g/L SC, bismethiazol 200 WP, kasumin 20 AS, myclobutanil 125 EC, propiconazole 250 EC, prochloraz 150 ME, on *Apis cerana cerana* workers. The acute oral and contact toxicities of 10 fungicides on *A. cerana cerana* were conducted by food intake method and drop method in laboratory. The results of virulence evaluation indicated that the acute toxicity of 7 kinds of fungicides, namely mancozeb, boscalid, procymidone, etc, on honey bees were low. The oral and contact toxicity of myclobutanil and propiconazole on honey bees were medium, the oral toxicity of prochloraz was high toxic and the contact toxicity was medium. The risk assessment results showed that these 3 fungicides were medium risk for

基金项目: 国家蜂产业技术体系建设专项 (CARS-45-SYZ14, CARS-45-KXJ9); 海南省重点项目 (ZDXM2014050); 基本科研业务费项目 (2016hzs1j042)

作者简介: 王雅琨, 女, 1991 年生, 硕士研究生, 研究方向为蜜蜂毒理学

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

收稿日期 Received: 2016-09-19; 接受日期 Accepted: 2016-11-8

*A. cerana cerana*. It is suggested that prochloraz should be forbidden to be applied on honey crops during the pollination period. Myclobutanil and propiconazole with medium toxicity should be cautiously used. In order to protect the safety of *A. cerana cerana*, fungicides with low toxicity on honey bees should be chosen as far as possible.

**Key words:** Fungicides; *Apis cerana cerana*; acute toxicity; hazard assessment

中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 是中国特有蜂种, 是我国传统农业授粉的主要昆虫, 对促进植物基因多样性和维持生态平衡具有重要的生态、社会和经济意义 (郑火青和胡福良, 2009)。近十年来, 大量证据表明, 人工饲养蜜蜂及野生传粉昆虫数量大幅减少, 但减少的原因仍有争议 (Goulson *et al.*, 2015)。影响蜜蜂生存的因素可能有许多种, 包括气候变化、遗传、由于种植模式改变而引起的营养变化、寄生虫和病毒疾病等 (Fairbrother *et al.*, 2014)。一些研究结果表明, 大量使用杀虫剂可能增加蜜蜂的损失率 (Cutler *et al.*, 2014; Al Nagggar *et al.*, 2015a, 2015b)。而 Goulson 等 (2015) 认为蜜蜂大量减少的原因是由于杀虫剂、杀菌剂以及寄生虫与生境丧失之间复杂的交互作用所致。蜜蜂群体数量锐减, 必定会引发农作物授粉危机 (Stokstad, 2013; 吴艳艳等, 2013) 这已引起社会各界的广泛关注。

除杀虫剂外, 杀菌剂也是蜜蜂和其他传粉昆虫最常接触的一类化合物, 因为杀菌剂常被喷在开花作物上, 而这类作物对采集蜂常有极高吸引力 (Legard *et al.*, 2001)。Mullin 等 (2010) 在蜂房和花粉等中发现高残留的杀菌剂如百菌清和丙环唑, 虽然通常认为这些杀菌剂对蜜蜂没有剧毒, 但蜜蜂接触的环境中会有不确定农药混合物的毒性 (Krupke *et al.*, 2012), 当新烟碱类杀虫剂与某些杀菌剂或其他农药结合后, 会有协同增效作用, 杀菌剂氟菌唑及丙环唑使啶虫脒对意大利蜜蜂的毒性分别增加 244 倍和 105 倍、使噻虫啉对意蜂毒性增加 1141 倍和 559 倍 (Iwasa *et al.*, 2014)。此外, 最近一项研究发现, 残留在蜂箱中的杀菌剂与蜂群病毒之间具有显著相关性 (Samson *et al.*, 2014)。

蜜蜂授粉是促进作物增产提质的重要措施。而人们往往为防治作物害虫而大量使用农药, 由于蜜蜂对农药十分敏感, 农药使用不当会影响蜜蜂授粉, 甚至造成蜜蜂中毒, 影响作物授粉工作的顺利进行, 严重破坏农田生态平衡 (安建东和陈文锋, 2011)。据赵帅等 (2011) 研究表明,

300 种农药中 86% 以上的杀虫剂对蜜蜂具有中等以上毒性, 而多数杀菌剂对蜜蜂相对安全, 属于低毒, 少数为剧毒。业内一致的看法认为作物花期一般要严禁使用杀虫剂, 而对杀菌剂的使用则没有太多的关注, 多数人认为杀菌剂对蜜蜂没有影响。近年来, 在我们开展的设施作物蜜蜂授粉试验及技术推广服务期间, 常发现为作物授粉的蜜蜂有不归巢甚至死亡现象, 故开展了农药尤其是农作物花期使用的各种杀菌剂对蜜蜂毒性影响的研究。本文以设施瓜类作物常用的几种杀菌剂为研究对象, 研究这些杀菌剂对中华蜜蜂的毒性影响, 明确其对中华蜜蜂的急性经口和接触毒性, 并进行了杀菌剂对中华蜜蜂的毒性风险评估。开展农药对蜜蜂毒性影响的研究, 可以更好的指导授粉生产实践, 也为进一步协调蜜蜂授粉与绿色防控技术体系的应用, 更好地保护蜜蜂为农作物授粉安全提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 供试生物

试验蜂群是由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所试验蜂场 (N19°32', E109°32') 提供的中华蜜蜂成年工蜂。供试蜜蜂在试验当天清晨收集, 要求为健康、大小一致的个体。用于急性经口毒性试验的蜜蜂在试验前饥饿 2 h。

#### 1.1.2 供试物

试验用药: 12.5% 腈菌唑乳油 (沈阳科创化学有限公司); 25% 丙环唑乳油 (海南博士威农用化学有限公司); 15% 咪鲜胺微乳剂 (海南博士威农用化学有限公司); 80% 代森锰锌可湿性粉剂 (美国陶氏益农公司); 50% 啶酰菌胺水分散型剂 (德国巴斯夫有限公司); 50% 腐霉利可湿性粉剂 (住友化学有限公司); 50% 烯酰吗啉可湿性粉剂 (德国巴斯夫有限公司); 100 g/L 氟霜唑悬浮剂 (日本石原产业株式会社); 20% 叶枯唑可湿性粉剂 (江西禾益化工有限公司); 2% 春雷霉素水

剂 (日本北兴化学工业株式会社)。

试剂: 75% 乙醇、丙酮 (广州化学试剂厂, 化学纯), 蔗糖 (海南椰威糖业有限公司), 超纯水 (MING-CHE 24UV)。

### 1.1.3 仪器设备

试验蜂笼 (13 cm × 6 cm × 10 cm 的长方体钢盒, 正面为玻璃板, 顶部有饲喂口, 底部有通风孔, 每次使用前经过 75% 乙醇消毒), 台秤 (广州香山横荣集团股份有限公司), 电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司), 人工气候室 (面积 3.8 m<sup>2</sup>), 农药环境检测仪 (浙江托普仪器有限公司), 微量移液枪 (Eppendorf, Genex Beta) 及配套吸头, 冰箱 (青岛海尔股份有限公司, BCD-215KA DZ), 容量瓶、量筒、烧杯 (BOMEX), 玻璃棒, 定性滤纸 (杭州沃华滤纸有限公司, 中速定性滤纸, Φ=11 cm), 饲喂器 (15 mL 离心管, 底部设 3 个直径 1 cm 的饲喂孔), 医用脱脂棉 (曹县华鲁卫生材料有限公司) 等。

### 1.1.4 试验条件

试验在温度 25°C ± 2°C、相对湿度 50% - 70%、黑暗条件下进行。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 急性经口毒性

以下试验操作均参照《化学农药环境安全评价试验准则》第 10 部分: 农药对蜜蜂急性毒性试验 (SAC, 2015)。通过预实验得出中华蜜蜂工蜂最高存活剂量与最低全致死剂量, 得出剂量范围按一定比例间距 (级差在 2.2 以内) 设置 5 个处理组及 1 个空白对照组 (若使用有机溶剂助溶的需设溶剂对照组)。每个处理 10 头蜜蜂, 各组均重复 3 次。将工蜂低温麻醉后放入试验笼中, 然后在饲喂器中加入 100 - 200 μL 含有不同浓度供试物的 50% (质量浓度) 蔗糖水溶液, 一旦药液消耗完 (通常需要 3 - 4 h, 最多延长至 6 h), 将饲喂器取出, 换用不含供试物的蔗糖水进行饲喂 (不限量), 并对每组药液的消耗量进行测定 (即测定该处理的食物残存的重量)。观察记录处理 48 h 后的中毒症状和死亡数。

### 1.2.2 急性接触毒性

通过预实验得出中华蜜蜂工蜂最高存活剂量与最低全致死剂量, 得出剂量范围按一定比例间距 (级差在 2.2 以内) 设置 5 个处理组及 1 个空白对照组 (若使用有机溶剂助溶则需设溶剂对照组)。每个处理 10 头蜜蜂, 各组均重复 3 次。供

试物用丙酮溶剂溶解, 配制成不同浓度的药液。对准蜜蜂中胸背板处, 用移液枪分别点滴各浓度供试药液 1.0 μL, 待蜂身晾干后转入试验笼, 用 50% (质量浓度) 蔗糖水饲喂。观察记录处理 48 h 后中毒症状和死亡数。

试验开始后观察蜜蜂的行为活动情况, 并记录 48 h 后蜜蜂死亡情况, 描述死亡症状及其他异常行为, 描述试验过程中与对照组相比不同的症状, 如蜜蜂的身体蜷缩、双翅张开等。当蜜蜂身体完全不动时即可判定为死亡。

## 1.3 数据统计与分析

### 1.3.1 毒力评价

根据试验期间死亡数及死亡时间, 采用 SPSS 19.0 软件计算 48 h 半致死剂量值 (LD<sub>50</sub>)、95% 置信限及相应的毒力回归方程。参照《化学农药环境安全评价试验准则》第 10 部分: 农药对蜜蜂急性毒性试验, 按照蜜蜂急性经口和接触的毒性半致死剂量 LD<sub>50</sub> (48 h), 将农药对蜜蜂的毒性分为四个等级: (1) LD<sub>50</sub> ≤ 0.001 μg a. i. /bee, 为剧毒; (2) 0.001 μg a. i. /bee < LD<sub>50</sub> ≤ 2.0 μg a. i. /bee, 为高毒; (3) 2.0 μg a. i. /bee < LD<sub>50</sub> ≤ 11.0 μg a. i. /bee, 为中毒; (4) LD<sub>50</sub> > 11.0 μg a. i. /bee, 为低毒。

### 1.3.2 风险评估

危害商值 (Hazard Quotients, HQ) 是经合组织 (OECD, 2005)、联合国粮农组织 (FAO, 1989)、欧洲和地中海植物保护组织 (EPPO, 2000) 等许多国家和国际组织用以初步判断农药对蜜蜂生态风险的指标。就蜜蜂而言, 其 HQ 值的计算公式为: HQ = AR/LD<sub>50</sub>, 式中 AR 代表农药田间推荐用量 (g/hm<sup>2</sup>), LD<sub>50</sub> 是农药对蜜蜂的急性经口或触杀试验所得值 (μg a. i. /bee)。如果 HQ 值小于 50, 则农药对蜜蜂无害; 反之, 则认为该农药对蜜蜂存在风险 (EPPO, 2000), HQ 值越高, 化学农药对蜜蜂的风险性越高。HQ 小于 50 时, 农药对蜜蜂为低风险; HQ 在 50 - 2500 时为中等风险; HQ 大于 2500 时为高风险。本文采用急性经口及接触毒性试验 LD<sub>50</sub> (48 h) 计算 HQ 值。

## 2 结果与分析

### 2.1 10 种杀菌剂对中华蜜蜂的急性毒性

从表 1 发现, 80% 代森锰锌可湿性粉剂、50% 啶酰菌胺水分散型粒剂、50% 腐霉利可湿性粉剂、

50% 烯酰吗啉可湿性粉剂、100 g/L 氰霜唑悬浮剂、20% 叶枯唑可湿性粉剂和 2% 春雷毒素水剂等 7 种杀菌剂对中华蜜蜂的急性经口毒性半致死剂量 LD<sub>50</sub> (48 h) 及急性接触毒性半致死剂量 LD<sub>50</sub> (48 h) 均大于 11.0 μg a. i. /bee, 按照《化学农药环境安全评价试验准则》中农药对蜜蜂的毒性等级划分, 对中华蜜蜂工蜂的毒性为低毒。

12.50% 腈菌唑乳油、25% 丙环唑乳油和 15% 咪鲜胺微乳剂等 3 种杀菌剂对中华蜜蜂的急性经口毒性 LD<sub>50</sub> 值 (48 h) 分别为 2.154、5.176 和

1.817 μg a. i. /bee, 接触毒性 LD<sub>50</sub> 值 (48 h) 分别为 4.697、7.261 和 3.228 μg a. i. /bee。按照《化学农药环境安全评价试验准则》中农药对蜜蜂的毒性等级划分, 腈菌唑及丙环唑对中华蜜蜂工蜂的急性经口毒性和急性接触毒性均为中毒, 咪鲜胺对中华蜜蜂工蜂的急性经口毒性为高毒, 急性接触毒性为中毒。3 种药剂急性经口毒性半致死剂量 LD<sub>50</sub> 值都小于急性接触毒性半致死剂量 LD<sub>50</sub> 值, 说明经口摄入这 3 种杀菌剂更易使中华蜜蜂中毒。

表 1 10 种杀菌剂对中华蜜蜂工蜂的急性经口毒性和接触毒性 (48 h)  
Table 1 Oral and contact toxicities of 10 fungicides on *Apis cerana cerana*

供试药剂 Pesticides	经口毒性 Oral toxicities				接触毒性 Contact toxicities			
	毒性回归方程 Toxicity regression equations	卡方值 Chi-square	显著性 Sig	LD <sub>50</sub> (μg a. i. /bee)	毒性回归方程 Toxicity regression equations	卡方值 Chi-square	显著性 Sig	LD <sub>50</sub> (μg a. i. /bee)
12.50% 腈菌唑乳油 Myclobutanil 125 EC	$y = 5.524x - 1.841$	0.528	0.913	2.154 (1.953 - 2.368)	$y = 3.925x - 2.637$	1.182	0.757	4.697 (4.003 - 5.393)
25% 丙环唑乳油 Propiconazole 250 EC	$y = 2.471x - 1.764$	0.127	0.988	5.176 (4.213 - 6.516)	$y = 6.186x - 5.327$	1.264	0.738	7.261 (6.601 - 7.910)
15% 咪鲜胺微乳剂 Prochloraz 150 ME	$y = 4.321x - 1.121$	0.444	0.931	1.817 (1.607 - 2.071)	$y = 4.817x - 2.482$	1.238	0.744	3.228 (2.897 - 3.604)
80% 代森锰锌可湿性粉剂 Mancozeb 800 WP	-	-	-	>11.0	-	-	-	>11.0
50% 啶酰菌胺水分散型粒剂 Boscalid 500 WG	-	-	-	>11.0	-	-	-	>11.0
50% 腐霉利可湿性粉剂 Procymidone 500 WP	-	-	-	>11.0	-	-	-	>11.0
50% 烯酰吗啉可湿性粉剂 Dimethomorph 500 WP	-	-	-	>11.0	-	-	-	>11.0
100 g/L 氰霜唑悬浮剂 Cyazofamid 100 g/L SC	-	-	-	>11.0	-	-	-	>11.0
20% 叶枯唑可湿性粉剂 Bismethiazol 200 WP	-	-	-	>11.0	-	-	-	>11.0
2% 春雷毒素水剂 Kasumin 20 AS	-	-	-	>11.0	-	-	-	>11.0

## 2.2 3 种杀菌剂中毒症状

12.5% 腈菌唑乳油、25% 丙环唑乳油及 15% 咪鲜胺微乳剂引起中华蜜蜂中毒, 起初表现为急躁乱飞, 横冲直撞, 后续中华蜜蜂出现身体翻转足朝上抽搐, 并且有呕吐物出现, 且农药剂量越高症状越明显。而对照组蜜蜂多数群聚安静的趴在蜂笼壁上。死亡中华蜜蜂症状表现为双翅张开、喙伸出、腹部收缩、身体逐渐发干并散发出刺鼻

臭味等。

## 2.3 3 种杀菌剂对中华蜜蜂的致死效果比较

依照上述急性毒性试验方法, 分别测定了这 3 种杀菌剂对中华蜜蜂的急性经口毒性和急性接触毒性。图 1-3 所示为各供试杀菌剂对中华蜜蜂的平均死亡率, 由各组试验结果可以得出, 随着供试杀菌剂剂量的逐渐增加, 各杀菌剂对中华蜜蜂的平均死亡率逐渐升高。

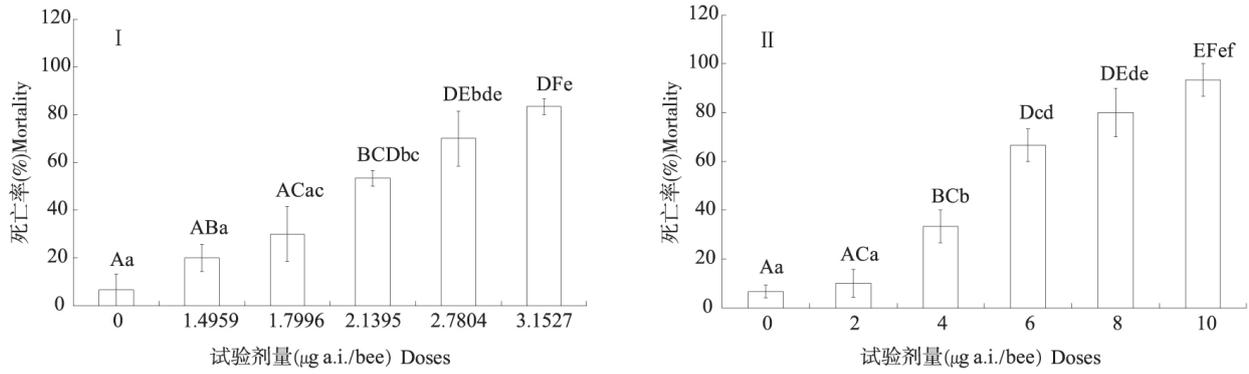


图 1 12.50% 腈菌唑乳油对中华蜜蜂急性毒性试验结果

Fig. 1 The acute toxicity of myclobutanil 125 EC on *Apis cerana cerana*

I, 急性经口毒性; II, 急性接触毒性。I, the acute oral toxicity; II, the acute contact toxicity.

注: 图中不同大写字母表示差异极显著水平 ( $P < 0.01$ ), 不同小写字母表示差异显著水平 ( $P < 0.05$ ), 下同。

Note: Different capital letters mean significant differences at 0.01 level, different small letters mean significant differences at 0.05 level. The same below.

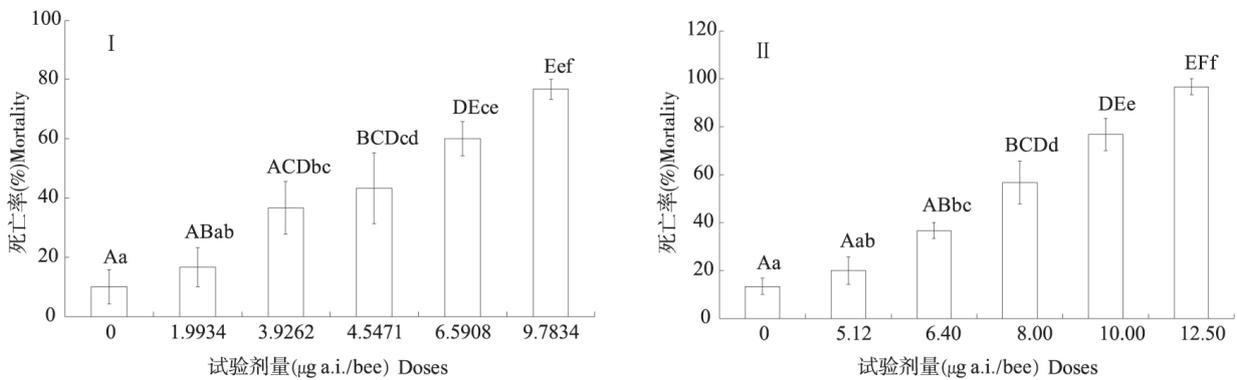


图 2 25% 丙环唑乳油对中华蜜蜂急性毒性试验结果

Fig. 2 The acute toxicity of propiconazole 250 EC on *Apis cerana cerana*

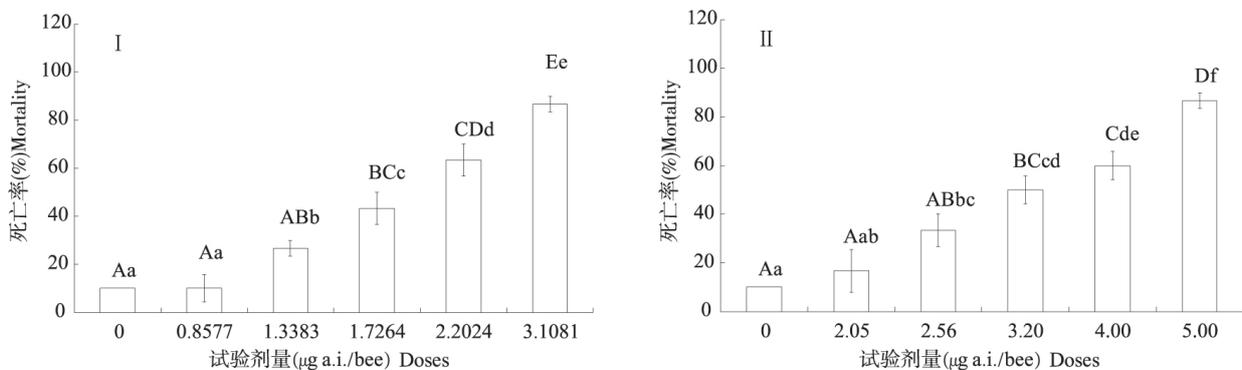


图 3 15% 咪鲜胺微乳剂对中华蜜蜂急性毒性试验结果

Fig. 3 The acute toxicity of prochloraz 150 ME on *Apis cerana cerana*

2.4 3 种杀菌剂对中华蜜蜂的危害商值

供试的 3 种杀菌剂对中华蜜蜂的危害商值如

表 2 示, 中华蜜蜂急性经口或接触 12.50% 腈菌唑、25% 丙环唑及 15% 咪鲜胺均为中等风险。

3 种杀菌剂的 HQ 顺序 15% 咪鲜胺 > 12.50% 腈菌唑 > 25% 丙环唑, 即 15% 咪鲜胺对中华蜜蜂的风

险性最高, 其次是 12.50% 腈菌唑, 25% 丙环唑的风险性最低。

表 2 3 种杀菌剂对海南蜜蜂的危害商值

Table 2 HQ values of three fungicides to *Apis cerana cerana*

供试药剂 Pesticides	田间推荐剂量 AR (g/hm <sup>2</sup> )	LD <sub>50</sub> (μg a. i. /bee)	危害商值 HQ	风险性等级 Risk level
12.50% 腈菌唑乳油 (经口毒性) Myclobutanil 125 EC (Oral toxicity)	480	2.154	222.8	中等风险性 Medium risk
12.50% 腈菌唑乳油 (接触毒性) Myclobutanil 125 EC (Contact toxicity)		4.697	102.2	中等风险性 Medium risk
25% 丙环唑乳油 (经口毒性) Propiconazole 250 EC (Oral toxicity)	495	5.176	95.6	中等风险性 Medium risk
25% 丙环唑乳油 (接触毒性) Propiconazole 250 EC (Contact toxicity)		7.261	68.2	中等风险性 Medium risk
15% 咪鲜胺微乳剂 (经口毒性) Prochloraz 150 ME (Oral toxicity)	750	1.817	412.8	中等风险性 Medium risk
15% 咪鲜胺微乳剂 (接触毒性) Prochloraz 150 ME (Contact toxicity)		3.228	232.3	中等风险性 Medium risk

### 3 结论与讨论

近年来, 农药对蜜蜂影响的研究引起了业界广泛的关注, 据报道, 许多杀虫剂对蜜蜂表现为高毒 (赵帅等, 2011; 赵怡楠等, 2014a, 2014b), 同时影响蜜蜂幼虫的生长发育 (Krupke *et al.*, 2012), 还影响蜜蜂的学习和记忆能力 (Decourtye *et al.*, 2005; Aliouane *et al.*, 2009)、劳动分工 (Krupke *et al.*, 2012)、以及采集行为 (Decourtye *et al.*, 2004; Guez *et al.*, 2005) 等。而杀菌剂的蜜蜂毒性普遍没有引起足够的重视, 甚至认为杀菌剂对蜜蜂没有影响。但在设施作物授粉生产实践中, 由于作物花期使用了杀菌剂而导致蜜蜂群势衰弱或死亡的现象屡见不鲜。在过去十年中, 为控制真菌爆发, 农业杀菌剂的使用量急剧增加 (USGS, 2015)。而且杀菌剂被施用于种子处理和整个生长季节的植物植株, 这增加了传粉昆虫接触杀菌剂的机会。虽然通常不认为杀菌剂对蜜蜂有剧毒, 但最近一项研究发现高残留的杀菌剂增加了蜜蜂感染寄生病毒的概率 (Pettis *et al.*, 2013)。通常情况下, 杀螨剂、杀菌

剂和抗菌药物均以无毒浓度施用, 但由于其间的交互作用可能使其对蜜蜂的毒性加剧 (Pilling & Jepson, 1993; Glavan & Božič, 2013; Johnson *et al.*, 2013)。从而导致杀菌剂暴露率增加, 减少生物多样性和传粉昆虫的数量及其为生态系统提供的授粉服务 (Hladik *et al.*, 2016)。

本文研究结果表明, 12.50% 腈菌唑乳油和 25% 丙环唑乳油和对中华蜜蜂的急性经口毒性和急性接触毒性均为中毒, 15% 咪鲜胺微乳剂对中华蜜蜂的急性经口毒性为高毒, 急性接触毒性为中毒。其中, 咪鲜胺为咪唑类脱甲基抑制剂, 腈菌唑和丙环唑均为三唑类脱甲基抑制剂, 均属于麦角甾醇生物合成抑制剂 (Ergosterol Biosynthesis Inhibitors, E-BIs)。这类杀菌剂通过抑制甾醇生物合成 C-14 脱甲基化酶从而抑制病菌麦角甾醇的生物合成, 使菌体细胞膜功能受到破坏, 从而抑制或干扰菌体附着胞及吸器的发育、菌丝和孢子的形成, 最终导致细胞死亡 (周子燕等, 2008)。贾变桃等 (2015) 研究表明氟硅唑对蜜蜂的接触毒性为高毒, 丙环唑和咪鲜胺为中毒; 丙环唑和抑霉唑对蜜蜂的经口毒性为中毒。郭晶等 (2010) 研究表明杀菌剂烯效唑、己唑醇、丙环唑、戊菌

唑、腈菌唑以及氟环唑对斑马鱼为中等毒性。池艳艳等 (2014) 报道氟硅唑、烯效醇 2 种杀菌剂对家蚕 2 龄幼虫为中等毒性, 具有高风险性。可见此类杀菌剂对非靶标有益昆虫具有一定的毒性风险, 应谨慎使用。

本试验结果表明, 10 种杀菌剂对中华蜜蜂的急性接触毒性, 咪鲜胺、腈菌唑和丙环唑为中毒, 其余 7 种药剂均为低毒; 10 种杀菌剂对中华蜜蜂的急性经口毒性, 咪鲜胺为高毒, 腈菌唑和丙环唑为中毒, 其余 7 种药剂均为低毒。因此, 应该严格禁止咪鲜胺在蜜源作物花期施用, 慎重选择中等毒性杀菌剂腈菌唑和丙环唑, 尽量选择对蜜蜂低毒的杀菌剂, 以保护中华蜜蜂的安全。

### 参考文献 (References)

- Al Naggar Y, Codling G, Vogt A, *et al.* Organophosphorus insecticides in honey, pollen and bees (*Apis mellifera* L.) and their potential hazard to bee colonies in Egypt [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015a, 114: 1–8.
- Al Naggar Y, Vogt A, Codling G., *et al.* Exposure of honeybees (*Apis mellifera*) in Saskatchewan, Canada to organophosphorus insecticides [J]. *Apidologie*, 2015b, 46: 667–678.
- Aliouane Y, Hassani AK, Gary V, *et al.* Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: Effects on behavior [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, 28: 113–122.
- An JD, Chen WF. Review of crop pollination by honey bees world – wide [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27 (1): 374–382. [安建东, 陈文锋. 全球农作物蜜蜂授粉概况 [J]. *中国农学通报*, 2011, 27 (1): 374–382]
- Chi YY, Qiao K, Jiang H, *et al.* Acute toxicity and safety evaluation of triazole fungicides to *Bombyx mori* [J]. *Science of Sericulture*, 2014, 40 (2): 272–276. [池艳艳, 乔康, 姜辉, 等. 三唑类杀菌剂对家蚕的急性毒性与安全性评价 [J]. *蚕业科学*, 2014, 40 (2): 272–276]
- Cutler GC, Scott – Dupree CD, Drexler DM. Honey bees, neonicotinoids and reports of incidents of mortality of bees: The Canadian situation [J]. *Pest Management Science*, 2014, 70: 779–783.
- Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, *et al.* Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 57: 410–419.
- Decourtye A, Devillers J, Genecque E, *et al.* Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera* [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2005, 48: 242–250.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). Guidelines for the Efficacy Evaluation of Plant Protection Products, No. 170: Side Effects on Honeybees [S]. IOBC/WPRS Bulletin, 2000, 23: 51–55.
- Fairbrother A, Purdy J, Anderson T, *et al.* Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees [J]. *Environmental Toxicology Chemistry*, 2014, 33: 719–731.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Revised Guidelines on Environmental Criteria for the Registration of Pesticides. Part 2, Guidelines for Appropriate Test Procedures [S]. Rome, Italy, 1989.
- Glavan G, Božič J. The synergy of xenobiotics in honey bee *Apis mellifera*: Mechanisms and effects [J]. *Acta Biologica Slovenica*, 2013, 56: 11–25.
- Goulson D, Nicholls E, Botías C, *et al.* Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers [J]. *Science*, 2015, 347: 1255957.
- Guez D, Zhang SW, Srinivasan MV. Methyl parathion modifies foraging behaviour in honeybees (*Apis mellifera*) [J]. *Ecotoxicology*, 2005, 14: 431–437.
- Guo J, Song WH, Ding F, *et al.* Acute toxicity study on zebrafish (*Danio rerio*) exposure to triazole fungicides [J]. *J. Southeast Univ (Med. Sci. Ed.)*, 2010, 29 (4): 402–406. [郭晶, 宋文华, 丁峰, 等. 三唑类杀菌剂对斑马鱼急性毒性研究 [J]. *东南大学学报 (医学版)*, 2010, 29 (4): 402–406]
- Hladik ML, Vandever M, Smallegange KL. Exposure of native bees foraging in an agricultural landscape to current – use pesticides [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 542: 469–477.
- Iwasa T, Motoyama N, Ambrose JT, *et al.* Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera* [J]. *Crop Protection*, 2004, 23: 371–378.
- Johnson RM, Dahlgren L, Siegfried BD, *et al.* Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*) [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8: e54092.
- Jia BT, Zou YF, Dong FS, *et al.* Acute toxicity and safety evaluation of several fungicides to *Apis mellifera* L. [J]. *Apiculture of China*, 2015, 66 (4): 13–16. [贾变桃, 邹亚飞, 董丰收, 等. 几种杀菌剂对意大利蜜蜂的安全性评价 [J]. *中国蜂业*, 2015, 66 (4): 13–16]
- Krupke CH, Hunt GJ, Eitzer BD, *et al.* Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7: e29268.
- Legard DE, Xiao CL, Mertely JC, *et al.* Management of botrytis fruit rot in annual winter strawberry using captan, thiram, and iprodione [J]. *Plant Disease*. 2001, 85: 31–39.
- Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, *et al.* High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5: e9754.
- 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.
- Pettis JS, Lichtenberg EM, Andree M, *et al.* Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut

- pathogen Nosema ceranae* [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8: e70182.
- Pilling ED, Jepson PC. Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*) [J]. *Pest Management Science*, 1993, 39: 293–297.
- 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: 农药对蜜蜂急性毒性试验 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2014]
- Samson – Robert O, Labrie G, Chagnon M, et al. Neonicotinoid – contaminated puddles of water represent a risk of intoxication for honey bees [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9: e108443.
- Stokstad E. Pesticides under fire for risks to pollinators [J]. *Science*, 2013, 340: 674–676.
- USGS. National Water – Quality Assessment (NAWQA) Program Annual Pesticide Use Maps. 2015. Available from: <https://water.usgs.gov/nawqa/pnsp/usage/maps/>.
- Wu YY, Zhou T, Wang Q, et al. Advance in phenomenon of colony collapse disorder [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2013, 34 (5): 95–99. [吴艳艳, 周婷, 王强, 等. 蜂群衰竭失调现象研究进展 [J]. 动物医学进展, 2013, 34 (5): 95–99]
- Zhao S, Yuan SK, Cai B. The acute oral toxicity of 300 formulated pesticides to *Apis mellifera* [J]. *Agrochemicals*, 2011, 50 (4): 278–280. [赵帅, 袁善奎, 才冰, 等. 300 个农药制剂对蜜蜂的急性经口毒性 [J]. 农药, 2011, 50 (4): 278–280]
- Zhao YN, Gao JL, Wang YJ, et al. Acute toxicity of six pesticides on *Apis cerana hainana* [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2014a, 35 (2): 339–343. [赵怡楠, 高景林, 王玉洁, 等. 6 种农药对海南中蜂的急性毒性测定 [J]. 热带作物学报, 2014a, 35 (2): 339–343]
- Zhao YN, Gao JL, Wang YJ, et al. Acute toxicity and hazard assessment of Neonicotinoid insecticides on *Apis cerana hainana* [J]. *Agrochemicals*, 2014b, 53 (3): 206–209. [赵怡楠, 高景林, 王玉洁, 等. 新烟碱类农药对海南中蜂的急性毒性测定及风险评估 [J]. 农药, 2014b, 53 (3): 206–209]
- Zheng HQ, Hu FL. Honeybee: A newly emerged model organism [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2009, 52 (2): 210–215. [郑火青, 胡福良. 蜜蜂—新兴的模式生物 [J]. 昆虫学报, 2009, 52 (2): 210–215]
- Zhou ZY, Li CC, Gao TC, et al. Advances in triazole fungicides [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36 (27): 11842–11844. [周子燕, 李昌春, 高同春, 等. 三唑类杀菌剂的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (27): 11842–11844]