

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20211019002

熊曼琼, 覃淦, 王梨竹, 等. 杀菌剂对蜜蜂生理和行为的毒性效应研究[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(6): 163-175

Xiong M Q, Qin G, Wang L Z, et al. Toxic effects of fungicides on physiology and behavior of honeybee [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(6): 163-175 (in Chinese)

## 杀菌剂对蜜蜂生理和行为的毒性效应研究

熊曼琼<sup>1,2</sup>, 覃淦<sup>1,2</sup>, 王梨竹<sup>1,2</sup>, 黄少康<sup>1,2</sup>, 李江红<sup>1,2</sup>, 段辛乐<sup>1,2,\*</sup>

1. 福建农林大学动物科学学院(蜂学院), 福州 350002

2. 农业农村部福建蜜蜂生物学科学观测站, 福州 350002

收稿日期: 2021-10-19 录用日期: 2021-12-19

**摘要:** 杀菌剂在植物病害防治过程中被广泛应用, 其在确保粮食安全中具有重要作用。作为重要的经济和授粉昆虫, 蜜蜂在传粉过程中不可避免地接触到杀菌剂。含有杀菌剂残留的花蜜和花粉也会被蜜蜂采集进蜂巢, 进而影响蜂群的健康和授粉效能。本文从杀菌剂自身及与其他农药的协同作用对蜜蜂毒性、生长发育、生理和行为的影响等方面进行综述, 阐述杀菌剂对蜜蜂个体和群体的负面影响, 以期有害生物防治策略制定过程中考虑蜜蜂等授粉昆虫安全, 建立并推广蜜蜂授粉与绿色防控增产技术集成应用, 并促进我国养蜂业和授粉业的健康可持续发展提供理论依据。

**关键词:** 杀菌剂; 蜜蜂; 综合毒性; 健康风险

文章编号: 1673-5897(2022)6-163-13 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Toxic Effects of Fungicides on Physiology and Behavior of Honeybee

Xiong Manqiong<sup>1,2</sup>, Qin Gan<sup>1,2</sup>, Wang Lizhu<sup>1,2</sup>, Huang Shaokang<sup>1,2</sup>, Li Jianghong<sup>1,2</sup>, Duan Xinle<sup>1,2,\*</sup>

1. College of Animal Science (College of Bee Science), Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

2. Fujian Honeybee Biology Observation Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Fuzhou 350002, China

Received 19 October 2021 accepted 19 December 2021

**Abstract:** Fungicides have been widely used in the prevention and control of plant disease, playing an important role in grain production safety. As a vital economic and pollinating insect, honeybees are unavoidably exposed to fungicides during the pollination and food collection process. Nectar and pollen containing fungicide residues can be carried into colonies by honeybees, affecting the health and pollination safety of the corresponding colony. This review focuses on the toxicity of fungicides and its synergetic effects with other pesticides on honeybee's physiology, development and behavior. We put particular emphasis on the negative effects of fungicides on honeybee individual and colony. It will facilitate an in-depth consideration of integrated pest management when developing pest control strategy and will establish and promote the integrated application of bee pollination and green control technologies to improve crop yield. It will also boost the healthy and sustainable development of beekeeping and pollination in China.

**基金项目:** 福建省自然科学基金资助项目(2022J01585); 科技基础资源调查专项—传粉昆虫资源调查监测网建设(2018FY100402); 福建省大学生创新创业训练计划立项项目(202110389159, 201910389205, 201810389089); 福州市科技项目(KLi19001A/2019-N-3, KH190025A, KH190316A); 福建农林大学科技创新专项基金项目(KFA17244A)

**第一作者:** 熊曼琼(1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为蜜蜂毒理学, E-mail: 2630214154@qq.com

\* 通信作者 (Corresponding author), E-mail: xinleduan@fafu.edu.cn

**Keywords:** fungicides; honeybee; comprehensive toxicity; health risk

蜜蜂是自然界最重要的授粉昆虫,全球 80% 的经济作物依赖蜜蜂授粉,其对促进植物遗传多样性和维持生态平衡具有重要的作用<sup>[1]</sup>。在我国,每年有约 500 多万群流动蜂群在生产蜂产品的同时可为大宗农作物授粉<sup>[2]</sup>;据测算,蜜蜂授粉对我国 36 种主要作物的年均价值贡献高达 3 042.20 亿元,占我国农业总产值的 12.30%<sup>[3]</sup>。

随着农业集约化、规模化和产业化发展,生态环境受到破坏,生物多样性下降,野生授粉昆虫数量锐减,使得家养蜜蜂对生态环境的作用更加突出,其在生物多样性和生态平衡等生态贡献远大于其授粉所产生的经济价值<sup>[4-5]</sup>。如果授粉昆虫持续减少,必定会引发农作物授粉危机,进而影响全球的作物产量及生态环境<sup>[6]</sup>,威胁粮食安全和生态安全。影响蜜蜂生存的因素有多种,如气候变化、遗传特性、农药使用、寄生虫和病毒疾病暴发等<sup>[7]</sup>,其中农药中毒导致蜜蜂死亡、蜂群数量骤减的现象已成为全球普遍关注的环境污染与生物安全问题<sup>[8-10]</sup>。

杀菌剂是作物病害防治的重要农业物资,我国注册登记可用于蜜粉源植物病害防治的杀菌剂有 128 种,多为唑类、无机类及金属类、苯胺及酰胺类(表 1)<sup>[10]</sup>。因蜜源植物病害防治的需要,生产上经常会在其开花期进行喷药,蜜蜂在采集过程中可直接接触到杀菌剂<sup>[11]</sup>;同时杀菌剂被植物吸收后会出现于花蜜、花粉和露水中,被蜜蜂采集后带回蜂巢,导致蜂群内蜂蜜、花粉和巢脾被污染,进而影响其幼虫和成蜂的生长发育和生理状态<sup>[12]</sup>。杀菌剂的作用机制主要是通过影响核酸和蛋白质的合成、呼吸作用、信号传导、细胞分裂和细胞膜的结构和功能,以达到抑菌或杀菌效果<sup>[13]</sup>;因此杀菌剂的田间推荐使用剂量不会导致蜜蜂急性死亡,但其田间残留仍会对蜜蜂行为、生长发育、繁殖、学习记忆和免疫产生影响<sup>[12-17]</sup>。

本文综述了杀菌剂对蜜蜂生长发育、生理和行为等健康方面影响的研究进展,探究杀菌剂对蜜蜂的胁迫效应,以期寻求减少或降低蜜蜂中毒的方法,更好地保护蜜蜂,使其更好地应用于授粉生产实践,也为进一步协调蜜蜂授粉与绿色防控技术体系的应用,为农作物授粉安全和我国农药使用安全性评价提供理论指导。

## 1 杀菌剂对蜜蜂的毒性作用 (Toxic effects of fungicides to bees)

目前,评价杀菌剂对蜜蜂的毒性主要是依据国

家标准《化学农药环境安全评价试验准则》第 10 部分,即“蜜蜂急性毒性试验<sup>[18]</sup>”。该标准提出通过测定药剂的急性经口毒性和急性接触毒性,确定药剂对蜜蜂的致死中剂量(LD<sub>50</sub>),根据致死中剂量将农药对蜜蜂毒性划分为 4 个等级:LD<sub>50</sub>>11.0 μg·蜂<sup>-1</sup>时,该杀菌剂对蜜蜂的毒性为低毒;2.0 μg·蜂<sup>-1</sup><LD<sub>50</sub><11.0 μg·蜂<sup>-1</sup>时,为中毒;0.001 μg·蜂<sup>-1</sup><LD<sub>50</sub><2 μg·蜂<sup>-1</sup>时,为高毒;LD<sub>50</sub><0.001 μg·蜂<sup>-1</sup>时,为剧毒。

赵帅等<sup>[19]</sup>分析了 59 种杀菌剂对意大利蜜蜂(*Apis mellifera*)的急性经口毒性,发现 51 种杀菌剂对意大利蜜蜂的毒性均表现低毒,8 种杀菌剂为中毒及中毒以上毒性。苍涛等<sup>[20]</sup>研究发现,多菌灵、噻菌酮、腐霉利、异菌脲和百菌清对意大利蜜蜂的急性经口毒性属于低毒,乙蒜素、咪鲜胺对意大利蜜蜂为中毒。贾变桃等<sup>[21]</sup>研究发现,丙森锌、苯醚甲环唑、石硫合剂、甲基硫菌灵、烯酰吗啉、氟菌唑和三环唑对意大利蜜蜂的急性经口和接触毒性均为低毒;而氟硅唑对意大利蜜蜂的接触毒性为高毒,丙环唑和咪鲜胺的接触毒性为中毒,丙环唑和抑霉唑对意大利蜜蜂的经口毒性为中毒。王雅珩等<sup>[22]</sup>评估结果显示,代森锰锌、啶酰菌胺、腐霉利、烯酰吗啉、氰霜唑、叶枯唑和春雷毒素等对中华蜜蜂(*Apis cerana*)的急性毒性均为低毒;腈菌唑和丙环唑对其的急性经口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。Simon-Delso 等<sup>[23]</sup>发现,啶酰菌胺在 24 h 和 48 h 对意大利蜜蜂无明显的急性毒性,但在 10 ~ 17 d 出现累积毒性。谭丽超等<sup>[24]</sup>测定发现,250 g·L<sup>-1</sup>啉菌酯悬浮剂、50% 啉菌酯可湿性粉剂、15% 吡唑啉菌酯悬浮剂和 22.5% 啉菌酯悬浮剂对意大利蜜蜂的经口毒性和接触毒性均>100 μg (a.i.)·蜂<sup>-1</sup>,为低毒。因有效成分含量、助剂种类、剂型及加工工艺等的不同,导致相同有效成分的不同制剂对蜜蜂的毒性也各不相同<sup>[19,25]</sup>。赵帅等<sup>[19]</sup>测定发现,在 6 个不同的戊唑醇制剂中,25% 戊唑醇乳油(emulsifiable concentrate, EC)和 25% 戊唑醇可湿性粉剂(wettable powder, WP)对意大利蜜蜂的毒性为剧毒,相同含量相同剂型的 2 个 25% 戊唑醇 EC 产品对意大利蜜蜂的毒性也存在差异。叶萱<sup>[25]</sup>发现助剂中的促渗透剂 N-甲基-2-吡咯烷酮(N-methyl-2-pyrrolidone, NMP)对意大利蜜蜂成蜂为中毒,对幼虫为高毒。

## 2 杀菌剂对蜜蜂的影响 (Influence of fungicides to bees)

### 2.1 杀菌剂对蜜蜂的生长发育的影响

作为典型的社会性昆虫,蜜蜂个体的生长发育与蜂群的群势相互影响。蜜蜂个体的生长发育决定了蜂群群势的强弱;蜂群群势越强,越有利于个体的生长发育<sup>[26]</sup>。蜜蜂可通过多种途径直接或间接地接触到杀菌剂,并将含有杀菌剂残留的花粉和花蜜带入蜂群中,进而对幼虫和成蜂的寿命、发育历期、化蛹率和羽化率等产生负面影响<sup>[16-17,27-29]</sup>。与对照相比,Eduardo da Costa Domingues 等<sup>[30]</sup>发现吡唑醚菌酯高浓度处理( $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )可导致意大利蜜蜂成蜂寿命显著缩短;而低浓度处理 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对其幼虫和蛹存活率、化蛹率和羽化率均无显著影响<sup>[31]</sup>。丙环唑对意大利蜜蜂幼虫的羽化率无显著影响,随着时间的延长,各处理组花粉消耗量显著下降,蜂王的产卵量下降;且随着处理浓度的升高,蜂子的存活率和寿命显著下降<sup>[32-33]</sup>。Dai 等<sup>[34]</sup>研究发现百菌清处理( $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )对意大利蜜蜂幼虫具有慢性毒性和累积效应,导致幼虫和蛹死亡率增加,幼虫发育速率减缓,其中对6日龄幼虫影响最大,死亡率高于50%<sup>[35]</sup>;同时处理组采集蜂的数量显著增多,且内勤蜂与采集蜂体质量、头宽和翅膀长度均显著低于对照<sup>[36]</sup>。Tomé 等<sup>[37]</sup>发现,蜂蜡和花粉中的残留的百菌清能显著降低意大利蜜蜂工蜂的存活率,发育历期延长,体质量下降,同时还可导致蜂王的产卵量下降<sup>[38]</sup>。王康等<sup>[15]</sup>的研究表明,亚致死剂量的多菌灵胁迫对意大利蜜蜂的蛹质量、化蛹率和羽化率无显著影响,但可导致幼虫的保幼激素滴度上升,蜕皮激素滴度显著下降,进而影响幼虫生长发育,造成幼虫化蛹的发育迟缓。多菌灵( $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )可增加蜜蜂对糖水的摄入量,减少花粉的消耗,显著降低意大利蜜蜂的存活率<sup>[39]</sup>。

杀菌剂的复配剂或混合使用对蜜蜂的影响更为严重。Fisher 等<sup>[29]</sup>研究发现,Pristine<sup>®</sup>(吡唑醚菌酯与啶酰菌胺的复配剂)可引起意大利蜜蜂蛋白质缺乏,营养不良,导致蜂群中工蜂寿命缩短,工蜂数量下降15%,影响蜂群越冬<sup>[40]</sup>。Johnson 和 Percel<sup>[41]</sup>研究认为,Pristine<sup>®</sup>对意大利蜜蜂蜂王的存活率和生长发育无显著影响,但其可以降低蜂王体内的营养水平和免疫力,导致病毒滴度增加<sup>[42]</sup>。Milone 等<sup>[43]</sup>通过室内测定发现,嘧菌酯对意大利蜜蜂蜂王幼虫的存活率和体质量无显著影响,其与腈苯唑、丙硫菌

唑的混合处理可导致工蜂采集能力显著下降43%。Tamburini 等<sup>[44]</sup>通过田间实验发现,按照使用说明中的使用浓度和方法,嘧菌酯不会对意大利蜜蜂个体和蜂群的发展(成蜂数、蜂子数和蜂群质量等)及采集蜂的数量、采集飞行次数等行为无影响,结果表明安全浓度范围内的杀菌剂对意大利蜜蜂短期发育影响不大,但长期接触该药后导致的累积效应以及不同农药间是否对意大利蜜蜂个体和群体的存在协同或拮抗作用还需要进一步研究。

### 2.2 杀菌剂对蜜蜂生理的影响

#### 2.2.1 杀菌剂对蜜蜂解毒酶和保护酶活性的影响

作为外源有毒物质,杀菌剂进入蜜蜂体内后必定会引起其保护酶和解毒酶的应激反应<sup>[16]</sup>。菌核净、咪鲜胺和异菌脲可诱导意大利蜜蜂保护酶超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性,而对保护酶过氧化氢酶(catalase, CAT)和解毒酶羧酸酯酶(carboxylesterases, CarE)、谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)活性表现为低浓度诱导,高浓度抑制;而咪鲜胺对意大利蜜蜂细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450)表现出显著的抑制作用。在不同处理时间段内,意大利蜜蜂保护酶和解毒酶处于协调变化状态,从而降低菌剂对蜜蜂生理的负面影响<sup>[16]</sup>。多菌灵低浓度处理可激活意大利蜜蜂体内 CYP450 和 CarE 酶的活性,但随着处理浓度增加,多菌灵处理组中的激活效应消失。亚致死剂量的腈菌唑、丙环唑和咪鲜胺处理中华蜜蜂内勤蜂 48 h 后,其 GST 活性显著提高,而 CYP450 活性显著降低<sup>[22]</sup>。不同浓度百菌清处理中意大利蜜蜂 6 日龄幼虫后,其体内 CYP9Q1、CYP9Q2 和 GSTD1 的基因表达量均显著下调,但可诱导新出房成蜂 CYP9Q2、CYP9Q3、CYP9S1、GSTD1 和 PKAC1 的基因表达量,这表明意大利蜜蜂的幼虫和成蜂抵御外界杀菌剂胁迫的方式存在一定的差异<sup>[37]</sup>。

#### 2.2.2 杀菌剂对蜜蜂消化与循环系统的影响

杀菌剂进入蜜蜂的消化道和血淋巴后,影响中肠细胞和血淋巴中的血细胞及其细胞器的正常结构和生理功能,导致蜜蜂对营养物质的吸收和代谢能力下降<sup>[13]</sup>。嘧菌酯处理( $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $200\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )可抑制意大利蜜蜂碱性磷酸酶和溶菌酶活性,引起血淋巴中浆血细胞数量下降及细胞核核异型比例增加<sup>[45]</sup>。Tadei 等<sup>[46]</sup>发现,吡菌酯可导致意大利蜜蜂成蜂中肠细胞 DNA 片段化和 Hsp70 表达量增加;而

吡唑醚菌酯和啉菌酯均可导致其中肠消化细胞和再生细胞的细胞质空泡化、分泌量增加和形态异常的现象,高浓度吡唑醚菌酯处理导致意大利蜜蜂肠道总蛋白含量下降<sup>[30]</sup>;啉菌酯对意大利蜜蜂马氏管及其细胞的结构无明显的影响,但导致细胞凋亡信号增加<sup>[47]</sup>。异菌脲处理意大利蜜蜂 24 h 和 48 h 后,其中肠消化细胞的 *atgl* 基因表达量增加,且有较多的溶酶体;同时消化细胞内质网退化、空泡化增加、顶端细胞异常突起、细胞核碎裂和染色质凝聚,Carneiro 等<sup>[48]</sup>通过分析认为,异菌脲可抑制意大利蜜蜂谷胱甘肽的合成,导致活性氧的产生,进而诱导不同类型的细胞死亡。除中肠柱状细胞外,腭菌唑和百菌清还可引起意大利蜜蜂唾液腺和卵巢细胞的凋亡,其中对柱状细胞的影响最大,2 种杀菌剂处理的平均细胞凋亡率分别为 69% 和 55%<sup>[49]</sup>。

### 2.2.3 杀菌剂对蜜蜂线粒体与呼吸代谢的影响

杀菌剂影响蜜蜂细胞内的线粒体的功能,导致其体内三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)含量降低及运动和飞行能力下降,影响采集效率。吡唑醚菌酯处理意大利蜜蜂后,会导致其体内参与碳水化合物和能量代谢酶基因表达量降低,如果糖-二磷酸醛缩酶、磷酸丙糖异构酶、苹果酸酶、6-磷酸葡萄糖异构酶、精氨酸激酶和无机焦磷酸酶等<sup>[50]</sup>,同时吡唑醚菌酯可影响线粒体呼吸过程中的膜电位(在  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  及以上剂量)、琥珀磷酸化( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  及以上的剂量)以及 ATP 的合成( $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  及以上剂量),且随着处理浓度的增加抑制效果越显著,意大利蜜蜂线粒体的功能受到扰乱,ATP 合成速率降低,内勤蜂蛋白合成能力下降,采集蜂飞行活动受到影响<sup>[51]</sup>。Prado 等<sup>[52]</sup>发现 6 种常用杀菌剂的混合物可使意大利蜜蜂腹部线粒体的核基因(*mrpl-15*、*mrpl-49*、*ndufb7*、*tim8* 和 *tim9*)表达量及采集效率显著下降。Mao 等<sup>[53]</sup>发现腭菌唑可损害意大利蜜蜂细胞内线粒体的功能,降低其体内 ATP 的产生,导致其飞行能力下降,同时腭菌唑也可使中华蜜蜂的呼吸速率显著下降,且呼吸速率下降程度与处理时间成正相关<sup>[54]</sup>。百菌清可影响意大利蜜蜂呼吸代谢中的氧化磷酸化,新陈代谢以及内分泌相关基因的表达量和转录本发生变化,如 *CYP9q1*、*CYP9q2*、*CYP9q3*、*hbg-3* 和 *ilp-1* 等,导致越冬蜂大量死亡<sup>[55]</sup>。

### 2.2.4 杀菌剂对蜜蜂免疫系统的影响

蜜蜂自身的免疫能力决定了其应对外界病原物等不良的影响的能力,而杀菌剂可引起蜜蜂免疫能

力下降,与病原物协同影响蜜蜂健康。Degrandi-Hoffman 等<sup>[56]</sup>分别用啉菌胺和吡唑醚菌酯处理 3 日龄和 7 日龄的意大利蜜蜂工蜂后,发现其对残翅病毒(deformed wing virus, DWV)和黑蜂王台病毒(black queen cell virus, BQCV)免疫力下降,2 种病毒的滴度增加。作为蜜蜂体液免疫的重要组成部分,溶菌酶、凝集素和酚氧化酶(phenoloxidase, PO)系统和抗菌肽等免疫因子可帮助蜜蜂应对外界不良因素的影响。苯菌灵处理意大利蜜蜂后,共有 5 759 个差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)表达上调,其中 77 个极其显著的 DEGs 主要与免疫、解毒、生物代谢和调控功能相关,如免疫基因 *abaecin*、*Defl* 和 *SP2* 等均显著上调;免疫信号 Toll 的 Toll-1、Toll-6、Toll-8、Toll-10 和信号传导蛋白 MyD88 均表达上调被激活<sup>[57]</sup>。陈恒<sup>[39]</sup>发现多菌灵和微孢子虫(*Nosema ceranae*)对意大利蜜蜂存活率无协同作用,但二者共同胁迫可影响其免疫应答,使抗菌肽基因 *abaecin* 和 *degensing-1* 表达量下调,而 *AmEaster* 和 *hymen* 表达量则显著上调。咪鲜胺可激活意大利蜜蜂刚出房成蜂的 Toll、JAK/STAT 和 JNK 等免疫通路基因,使其体内抗菌肽基因(*defensing-1* 和 *defensin-2*)和解毒基因 *PKA-1* 的表达量增加<sup>[58]</sup>。百菌清可降低意大利蜜蜂体内氧化酶活性,导致意大利蜜蜂对兽棚病毒(flock house virus, FHV)抵抗力下降<sup>[36]</sup>。通过田间实验发现,田间残留的多菌灵能显著降低意大利蜜蜂采集蜂的免疫基因(*hymenoptaecin* 和 *apidaecin*)的表达量,并导致其 P450 酶活性显著下降<sup>[59]</sup>;通过室内测定分析发现,多菌灵可引起意大利蜜蜂幼虫和成蜂体内多个 DEGs 表达量发生变化,其中免疫基因 *abaecin*、*defensin-1*、*Hymenoptaecin*、酚氧化酶 A3 亚基(phenoloxidase subunit A3)和溶菌酶(lysozyme)的表达量均显著上调<sup>[60-61]</sup>。这些研究结果表明杀菌剂可以直接对意大利蜜蜂的免疫基因产生影响,同时蜜蜂可协调体内其他免疫途径来减轻杀菌剂对其免疫能力带来压力。

### 2.3 杀菌剂对蜜蜂的肠道微生物的影响

蜜蜂的肠道微生物具有构成简单、组成稳定等特点,其对寄主的生长发育、营养代谢、提高免疫力和降解有毒物质等方面至关重要<sup>[62]</sup>。蜜蜂在取食含有杀菌剂的食物后,其体内稳定的肠道微生物多样性、丰度和组成均能产生不同程度变化等失调现象,进而影响蜜蜂对食物营养的摄入以及免疫系统的破坏,导致蜜蜂个体死亡和蜂群崩溃<sup>[27]</sup>。代君君等<sup>[17]</sup>

利用 PCR-DGGE 分析方法研究发现,  $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  苯菌灵可导致意大利蜜蜂肠道真菌的种类和数量均显著下降, 造成其肠道微生态平衡失调, 破坏了蜜蜂机体正常的生理功能, 严重影响蜜蜂的健康。范荣莉<sup>[27]</sup>研究发现, 不同浓度多菌灵处理 ( $5$ 、 $50$ 、 $500$  和  $5\,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 可扰乱意大利蜜蜂肠道微生物结构的稳定性, 如厚壁菌门 (Firmicutes) 的 *Frischella* 属和变形菌门 (Proteobacteria) 的 *Gilliamella* 属的多样性与丰富度均有不同程度的改变; 与对照相比, 多菌灵  $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处理组的乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 丰度显著降低, 而变形菌门丰度增加。复配剂 Pristine® 的低浓度处理 ( $1.99 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 可导致意大利蜜蜂肠道内  $\gamma$ -变形菌纲 *Gilliamella* sp. 相对丰度降低, 且细菌种类数量下降; 而高浓度处理 ( $11.41 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 可致乳杆菌属类群 (*Lactobacillus* sp.)、Firm-4 和 Firm-5 的丰度增加<sup>[40]</sup>。百菌清可引起意大利蜜蜂肠道细菌群落结构和功能发生变化, 如乳杆菌科 (Lactobacillaceae) 的相对丰度下降, 而肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 和柄杆菌科 (Caulobacteraceae) 相对丰度提高, 这导致处理组意大利蜜蜂的糖代谢过程中的氧化磷酸化增强, 但肠道中肽酶的氧化磷酸化下降, 进而影响蜜蜂对蛋白质的消化吸收, 导致其营养不良<sup>[63]</sup>。

此外, 杀菌剂和蜜蜂的病原物对其肠道微生物具有协同作用, 啮酰菌胺可导致感染东方蜜蜂微孢子虫 (*Nosema ceranae*) 意大利蜜蜂的死亡率增加, Paris 等<sup>[64]</sup>研究发现啮酰菌胺田间施用浓度与微孢子虫协同作用可改变意大利蜜蜂体内肠道微生物的多样性, 导致  $\alpha$ -变形菌 (*Alphaproteo bacteria*) 丰度降低, 变形菌 (*Gammaproteo bacteria*) 丰度增加, 进而引起蜜蜂肠道菌群的紊乱。通过在意大利蜜蜂饲料中添加乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilacticii*) 降低微孢子虫和啮酰菌胺对其发育 (卵黄原蛋白)、免疫 (丝氨酸蛋白酶-40、防御素) 和解毒 (谷胱甘肽过氧化物酶-2、过氧化氢酶) 等基因的负面影响<sup>[65]</sup>。

## 2.4 杀菌剂对蜜蜂行为的影响

为应对复杂的外界环境, 蜜蜂形成了完善的劳动分工体系和多样的行为表现, 如访花、采集、舞蹈、防御、卫生、学习和记忆等, 这些行为对蜜蜂个体和群体的发展至关重要<sup>[66]</sup>。复配剂 Pristine® 可促进蜂群中的负责照顾蜂王和幼虫的内勤蜂提早转换为采集蜂, 使其行为发生根本性的改变<sup>[29]</sup>。Liao 等<sup>[32]</sup>研究发现, 啮酰菌胺可使意大利蜜蜂振翅时间延长、振动次数减少, 影响其飞行和采集能力下降, 而吡唑醚

菌酯可抑制 3~4 日龄成蜂体内 ATP 的合成, 导致其活动能力 (运动距离和速率) 显著下降<sup>[31]</sup>。丙环唑可使意大利蜜蜂过度兴奋和腹部弯曲等异常行为, 但随着处理时间延长, 症状逐渐消失<sup>[67]</sup>, 而王铜和福美双能提高意大利蜜蜂采集活动的积极性和对外的攻击性<sup>[68]</sup>。

花蜜和花粉中残留的杀菌剂可影响蜜蜂视觉、嗅觉、味觉和定位等能力, 导致其行为的精确度和准确度出现偏差, 这些行为尤其是学习记忆能力决定了蜜蜂的采集效率, 一旦受到不良影响可导致蜂群中食物缺乏<sup>[69-72]</sup>。DesJardins 等<sup>[69]</sup>利用不同浓度的 Pristine® 处理意大利蜜蜂后发现, 处理组意大利蜜蜂对蔗糖的反应与对照组无差异; 但处理组 ( $23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $230 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的学习效果显著下降, 仅有 80% 个体能进行联想学习, 且处理组意大利蜜蜂对气味的反应频率也显著低于对照。咪鲜胺不同浓度处理组 ( $35.7$ 、 $75$  和  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 意大利蜜蜂对糖水反应的灵敏度与对照组无差异, 但处理组意大利蜜蜂的学习记忆能力下降<sup>[70]</sup>。部分杀菌剂还可以通过影响蜜蜂的正常生理状态进而使其行为出现异常, 杀菌剂 Pristine® ( $230 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 长期处理才能对其联想学习行为有显著影响, 同时亦可导致意大利蜜蜂飞行能力及代谢率显著下降, 降低采集蜂的授粉效率和效果<sup>[71]</sup>。蜂蜡中的百菌清残留可使意大利蜜蜂蜂王下颚腺分泌的信息素下降, 导致其对蜂群中工蜂的吸引力和蜂群控制力下降<sup>[38]</sup>。除室内试验外, 大量的田间试验也证实了杀菌剂对蜜蜂行为具有负面影响, Tschoeke 等<sup>[72]</sup>发现, 随着甲基硫菌灵和百菌清使用次数的增加, 意大利蜜蜂访花频率也会随之下降; 而啮菌酯、腈苯唑和丙硫菌唑也对蜜蜂的有不同程度驱避作用。与对照相比, 杀菌剂混合使用导致采粉蜂的数量下降 43%<sup>[73]</sup>。商品药剂 Horizon (有效成分为戊唑醇) 不同浓度处理 ( $250$ 、 $125$  和  $62.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对意大利蜜蜂具有一定的驱避作用, 驱避率均高于 90%<sup>[74]</sup>。

## 3 杀菌剂与其他农药对蜜蜂的联合毒性效应 (Combined toxic effects of fungicides with other pesticides to bees)

大多数杀菌剂单独使用对蜜蜂低毒或无毒, 但杀菌剂可以通过影响蜜蜂解毒酶活性, 能量代谢等正常的生理代谢, 提高农药对蜜蜂毒性, 其中杀菌剂对杀虫剂的增效作用的研究较多, 二者联合暴露后会提高杀虫剂的毒性, 导致蜜蜂死亡率增加。氟醚唑可使联苯菊酯、1-氯氟氰菊酯、 $\beta$ -氯氟氰菊酯、 $\alpha$ -氯

氟氰菊酯、氯氰菊酯、 $\gamma$ -氯氰菊酯、氯菊酯和氰戊菊酯等8种菊酯类杀虫剂对意大利蜜蜂急性毒性提高1.61倍~5.45倍<sup>[61]</sup>。丙环唑可提高氯虫苯甲酰胺、除虫脲和甲氧虫酰肼对意大利蜜蜂的毒性,还可导致蜂蛹羽化率显著下降<sup>[75-76]</sup>。甲基硫菌灵、百菌清及二者混合物可使吡虫啉对意大利蜜蜂急性毒性提高了23.9倍、126倍和1589.8倍<sup>[77]</sup>。咪鲜胺可提高氟胺氰菊酯(1980倍)、蝇毒磷(70.9倍)和唑螨酯(26.6倍)对意大利蜜蜂的毒性<sup>[78]</sup>。杀菌剂和其他农药的混合物也会对蜜蜂个体和蜂群产生累积和联合作用,严重威胁蜜蜂个体和群体的健康。苯醚甲环唑与吡虫啉、草甘膦的混合物可导致越冬意大利蜜蜂食物消耗量增加,但蜂群存活率却显著下降<sup>[79]</sup>。Han等<sup>[80]</sup>研究发现丙环唑可提高啉虫脲对中华蜜蜂的毒性,还可使刚出房中华蜜蜂和采集蜂的体质量显著下降、P450和GST酶活改变,二者对中华蜜蜂成蜂具有显著的协同增效作用。多菌灵与噻虫嗪混合处理可导致意大利蜜蜂的嗅觉能力下降,不能区分花香,对蜜粉源植物定位时间有所延长,导致采集蜂工作效率下降<sup>[81]</sup>。Zhu等<sup>[82]</sup>研究发现四氟醚唑和吡虫啉混合处理意大利蜜蜂,处理组成蜂CarE、GST、乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)和酚氧化酶(PO)的活性增强。与单独唑菌胺酯处理相比,唑菌胺酯与氟虫腈的混合物连续处理意大利蜜蜂内勤蜂6d,可导致其上颚腺分泌细胞体积和咽下腺腺泡数量下降,进而影响蜂王浆的分泌量<sup>[83]</sup>。Domingues等<sup>[84]</sup>通过对血淋巴内的血细胞检测发现,啉氧菌酯与噻虫嗪混合处理可使意大利蜜蜂成蜂绛色细胞的形状和大小及心包细胞活动出现异常,影响意大利蜜蜂的正常营养吸收,且处理组血淋巴中营养物质含量下降,成蜂寿命缩短、死亡率增加。咪鲜胺和蝇毒磷混合处理可显著降低意大利蜜蜂的预蛹的体内病原识别蛋白(PGRP-SC、PGRPSC4300和PGRPPLC710)和免疫基因(*defensing-1*和*abaecin*)的表达量,而白眼蛹的JNK(*basket*)、Toll(*cactus*和*toll*)和AMP(*abaecin*、*defensin-1*和*defensin-2*)等相关免疫基因的表达量增加<sup>[85]</sup>。

#### 4 总结与展望(Summary and prospect)

据国际杀菌剂抗药性行动委员会(Fungicide Resistance Action Committee, FRAC)报道,杀菌剂的作用机理涉及到病原菌生理、生化及相关代谢各方面,如:物质(核酸、氨基酸、蛋白质、脂类和甾醇等)合成、呼吸作用、酶的活性、信号转导和物质运输等;这

些作用靶点亦普遍存在各类生物体内(表1)<sup>[3]</sup>。对于非靶标生物蜜蜂而言,杀菌剂施用后会直接或间接进入其体内,在解毒保护机制(解毒酶和保护酶)的作用下被降解并排除体外,所以大多数的杀菌剂对蜜蜂的急性经口毒性均为低毒<sup>[19]</sup>,如甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂。该类杀菌剂作用机理是影响病原菌线粒体复合物Ⅲ辅酶Q的氧化位点(Qo)结合,阻断细胞色素b和c1间的电子传递,从而干扰细胞正常的ATP的合成<sup>[86]</sup>;但意大利蜜蜂长期接触后会影响到其线粒体呼吸过程中的膜电位、琥珀磷酸化及ATP的合成,导致蜜蜂的活动能力下降,且随着处理浓度的增加抑制效果越显著<sup>[31,51]</sup>;同时还会导致工蜂肠道总蛋白含量下降,中肠消化细胞和再生细胞形态异常,细胞质空泡化增加的现象。此外,该类杀菌剂对非靶标水生生物斑马鱼具有较高的毒性,导致其畸形率增加并影响能量合成、氧化应激、细胞凋亡及内分泌干扰相关基因的表达<sup>[86-87]</sup>。因此长期在低浓度杀菌剂暴露亦会对非靶标生物产生慢性毒性,对其生长发育、生理和行为等方面产生毒性效应<sup>[86]</sup>。在生产实践中,应加强对杀菌剂施用的监管,并通过限制其施用剂量、施用范围等措施以降低其对非靶标生物和环境的影响。

目前,多数研究均基于杀菌剂对蜜蜂的致死中浓度(median lethal concentration,  $LC_{50}$ )或致死中剂量(median lethal dose,  $LD_{50}$ ),评估其对蜜蜂的毒性,并测定此杀菌剂浓度或者剂量对蜜蜂存活率、食物消耗、飞行、定向归巢、学习记忆、繁殖、生理功能、与病原互作等诸多方面有影响。在实际生产中,杀菌剂的田间施用浓度或者剂量远低于其对蜜蜂的致死中浓度( $LC_{50}$ )或致死中剂量( $LD_{50}$ ),蜜蜂接触杀菌剂后对其存活率无显著影响,但亚致死剂量或浓度的杀菌剂对蜜蜂等传粉昆虫的生长发育、生理和行为等方面仍具有潜在的威胁,这方面研究应是今后蜜蜂毒理学研究的重点之一。为更精确地评估杀菌剂对蜜蜂的影响,应当在室内测定杀菌剂对蜜蜂急性毒性(经口和接触)的基础上,注重半田间或田间实验以及幼虫饲喂试验,通过初级评估(风险商值, RQ)和高级风险评估进行杀菌剂特征描述,以确保杀菌剂使用不会对蜜蜂个体和种群造成长期的不良影响<sup>[88]</sup>。此外,在杀菌剂对蜜蜂影响研究中的研究对象多为意大利蜜蜂,而中华蜜蜂、熊蜂(*Bombus terrestris*、*B. impatiens*)、壁蜂(*Osmia cornifrons*、*O. bicornis*、*O. lignaria*)、切叶蜂(*Megachile rotundata*)以及其

表 1 我国蜜粉源植物上登记使用的杀菌剂的种类、通用名及作用机理  
Table 1 Classification, common name and action mechanism of registered fungicides on nectar and pollen plants in China

| 种类<br>Classification          | 通用名<br>Common name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 作用机理<br>Action mechanism                                                           |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 唑类<br>Azoles                  | 叶枯唑(Bismerthiazol)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 寄主植物防御诱导<br>Host plant defense induction                                           |
|                               | 噁霉灵(Hymexazol)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 核酸代谢<br>Nucleic acids metabolism                                                   |
|                               | 氰霜唑(Cyazofamid)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 呼吸作用<br>Respiration                                                                |
|                               | 溴菌腈(Bromothalonil)、苯醚甲环唑(Difenoconazole)、烯唑醇(Diniconazole)、<br>腈苯唑(Fenbuconazole)、氟硅唑(Flusilazole)、己唑醇(Hexaconazole)、<br>抑霉唑(Imazalil)、抑霉唑硫酸盐(Imazalil sulfate)、亚胺唑(Imibenconazole)、<br>种菌唑(Ipconazole)、腈菌唑(Myclobutanil)、戊菌唑(Penconazole)、<br>咪鲜胺(Prochloraz)、咪鲜胺锰盐(Prochloraz-manganese chloride complex)、<br>丙环唑(Propiconazole)、戊唑醇(Tebuconazole)、<br>四氟醚唑(Tetraconazole)、三唑酮(Triadimefon)、<br>三唑醇(Triadimenol)、氟菌唑(Triflumizole)     | 细胞膜中的甾醇生物合成<br>Sterol biosynthesis in membranes                                    |
|                               | 波尔多液(Bordeaux mixture)、松脂酸铜(Copper abietate)、乙酸铜(Copper acetate)、<br>硫酸铜钙(Copper calcium sulphate)、柠檬酸铜(Copper citrate)、<br>碱式硫酸铜(Copper dihydroxosulphate)、氧化亚铜(Cuprous oxide)、<br>王铜(Copper oxychloride)、硫酸铜(Copper sulfate)、络氨铜(Cuaminosulfate)、<br>石硫合剂(Lime sulfur)、混合氨基酸铜(Mixed amino acid copper)、<br>琥胶肥酸铜(Copper (succinate+glutarate+adipate))、硫磺(Sulphur)、<br>噻森铜(Thiessen copper)、噻菌铜(Thiodiazole copper)、噻唑锌(Zinc thiazole) | 具有多作用位点化合物<br>Chemicals with multi-site activity                                   |
| 苯胺及酰胺类<br>Aniline and amides  | 双炔酰菌胺(Mandipropamid)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 细胞壁生物合成<br>Cell wall biosynthesis                                                  |
|                               | 氟吡菌胺(Fluopicolide)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 细胞骨架和运动蛋白<br>Cytoskeleton and motor proteins                                       |
|                               | 甲霜灵(Metalaxyl)、精甲霜灵(Metalaxyl-M)、噁霜灵(Oxadixyl)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 核酸代谢<br>Nucleic acids metabolism                                                   |
|                               | 啉啉菌胺(Ametoctradin)、啉啉菌胺(Boscalid)、锈灵(Carboxin)、氟啉胺(Fluazinam)、<br>萎氟啉啉酰胺(Fluopyram)、吡啉啉菌胺(Isopyrazam)、噻唑酰胺(Thifluzamide)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 呼吸作用<br>Respiration                                                                |
| 甲氧基丙烯酸酯类<br>Methoxyacrylates  | 啉菌酯(Azoxystrobin)、烯啉菌酯(Enestroburin)、醚菌酯(Kresoxim-Methyl)、<br>啉氧菌酯(Picoxystrobin)、吡啉醚菌酯(Pyraclostrobin)、<br>啉菌酯(Pyraoxystrobin)、氯啉菌酯(Triclopyricarb)、呋菌酯(Trifloxystrobin)                                                                                                                                                                                                                                                                | 呼吸作用<br>Respiration                                                                |
| 二硫代氨基甲酸酯类<br>Dithiocarbamates | 代森铵(Amobam)、代森锰锌(Mancozeb)、代森联(Metiram)、<br>丙森锌(Propineb)、福美双(Thiram)、代森锌(Zineb)、福美锌(Ziram)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 具有多作用位点化合物<br>Chemicals with multi-site activity                                   |
| 苯并咪唑类<br>Benzimidazoles       | 苯菌灵(Benomyl)、多菌灵(Carbenrazim)、<br>噻菌灵(Thiabendazole)、甲基硫菌灵(Thiophanate-Methyl)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 细胞骨架和运动蛋白<br>Cytoskeleton and motor proteins                                       |
| 吗啉类<br>Morpholines            | 氟吗啉(Flumorph)、烯酰吗啉(Dimethomorph)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 细胞壁生物合成<br>Cell wall biosynthesis                                                  |
| 有机磷酸酯类<br>Organophosphates    | 三乙磷铝(Fosetyl-Al)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 寄主植物防御诱导<br>Host plant defense induction                                           |
|                               | 甲基立枯磷(Tolclofos-Methyl)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 脂质合成或运输/膜完整性或功能<br>Lipid synthesis or transport/<br>membrane integrity or function |

续表1

| 种类<br>Classification                 | 通用名<br>Common name                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 作用机理<br>Action mechanism                                                            |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 苯类和酞酰亚胺类<br>Benzene and phthalimides | 克菌丹(Captan)、百菌清(Chlorothalonil)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 具有多作用位点化合物<br>Chemicals with multi-site activity                                    |
| 二羧酰亚胺类<br>Dicarboximides             | 异菌脲(Iprodione)、腐霉利(Procymidone)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 信号转导<br>Signal transduction                                                         |
| 苯胺基嘧啶类<br>Anilinopyrimidines         | 噻菌环胺(Cyprodinil)、嘧霉胺(Pyrimethanil)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 氨基酸和蛋白质合成<br>Amino acids and protein synthesis                                      |
| 生物源类<br>Biogenics                    | 乙蒜素(Ethylicin)、春雷霉素(Kasugamycin)、<br>农用硫酸链霉素(Streptomycin sulfate for agriculture)、<br>中生菌素(Zhongshengmycin)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 氨基酸和蛋白质合成<br>Amino acids and protein synthesis                                      |
|                                      | 蜡质芽孢杆菌( <i>Bacillus cereus</i> )、坚强芽孢杆菌( <i>B. firmus</i> )、<br>地衣芽孢杆菌( <i>B. licheniformis</i> )、枯草芽孢杆菌( <i>B. subtilis</i> )、<br>小檗碱(Berberine)、蛇床子素(Cnidadin)、<br>噬菌核霉( <i>Coniothyrium minitans</i> )、丁香酚(Eugenol)、<br>苦参碱(Matrine)、宁南霉素(Ningnanmycin)、<br>多黏类芽孢杆菌( <i>Paenibacillus polymyxa</i> )、<br>嘧啶核苷类抗菌素(Pyrimidine nucleoside antibiotics)、<br>申嗟霉素(Phenazino-1-carboxylic acid)、大黄素甲醚(Physcion)、<br>木霉菌( <i>Trichoderma</i> sp.) | 多种作用机制的生物制剂<br>Biologicals with multiple<br>modes of action                         |
|                                      | 多抗霉素(Polyoxin)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 细胞壁生物合成<br>Cell wall biosynthesis                                                   |
|                                      | 几丁聚糖(Chltosan)、香菇多糖(Fungous proteoglycan)、<br>氨基寡糖素(Oligosaccharins)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 寄主植物防御诱导<br>Host plant defense induction                                            |
|                                      | 缬霉威(Iprovalicarb)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 细胞壁生物合成<br>Cell wall biosynthesis                                                   |
|                                      | 二氰蒽醌(Dithianon)、双胍三辛烷基苯磺酸盐(Iminoctadine tris)、<br>二氯异氰尿酸钠(Sodium dichloroisocyanurate)、<br>三氯乙腈尿酸(Trichloroisocyanuric acid)、<br>氯溴异氰尿酸(Chloroisobromine cyanuric acid)                                                                                                                                                                                                                                                                        | 具有多作用位点化合物<br>Chemicals with multi-site activity                                    |
| 其他<br>Others                         | 萘乙酸(1-naphthyl acetic acid)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 寄主植物防御诱导<br>Host plant defense induction                                            |
|                                      | 五氯硝基苯(Quintozene)、霜霉威(Propamocarb)、<br>过氧乙酸(Peracetic acid)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 脂质合成或运输/膜的完整性或功能<br>Lipid synthesis or transport/ membrane<br>integrity or function |
|                                      | 噻霉酮(Benziothiazolinone)、乙嘧酚(Ethirimol)、乙嘧酚磺酸酯(Bupirimate)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 核酸代谢<br>Nucleic acids metabolism                                                    |
|                                      | 拌种灵(Amicarthiazol)、噁唑菌酮(Famoxadone)、硝苯菌酯(Meptyldinocap)、<br>敌磺钠(Fenamiosulf)、辛菌胺醋酸盐(Octyl amine acetate)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 呼吸作用<br>Respiration                                                                 |
|                                      | 咯菌腈(Fludioxonil)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 信号转导<br>Signal transduction                                                         |
|                                      | 霜脲氰(Cymoxanil)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 作用机制未知<br>Unknown mode of action                                                    |

他野生传粉蜂的研究相对较少。未来应该注重开展常用杀菌剂对这些蜂类的毒性、作用机理和亚致死效应方面的研究,这对于我国授粉蜂类种质资源和

多样性保护策略的制定具有重要的参考价值。此外,在制定作物的综合防控策略时,应该考虑防治措施对传粉昆虫,天敌昆虫等有益生物的影响,使用对

环境友好的生物农药,合理使用化学农药;建立并推广蜜蜂授粉与绿色防控技术体系,保障蜜蜂等授粉昆虫的福利,将有害生物综合治理(integrated pest management, IPM)转换为有害生物和授粉昆虫的综合管理(integrated pest and pollinator management, IP-PM)<sup>[89]</sup>,促进我国养蜂业、授粉业和农业的健康可持续发展。

**通信作者简介:**段辛乐(1985—),男,博士,讲师,硕士生导师,主要研究方向为昆虫(蜜蜂)毒理学。

#### 参考文献 (References):

- [1] 匡邦郁, 匡海鸥. 蜜蜂生物学[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2003: 220-222
- [2] 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  
An J D, Chen W F. Review of crop pollination by honey bees world-wide [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(1): 374-382 (in Chinese)
- [3] 刘朋飞, 吴杰, 李海燕, 等. 中国农业蜜蜂授粉的经济价值评估[J]. 中国农业科学, 2011, 44(24): 5117-5123  
Liu P F, Wu J, Li H Y, et al. Economic values of bee pollination to China's agriculture [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(24): 5117-5123 (in Chinese)
- [4] Klein A M, Vaissière B E, Cane J H, et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops [J]. Proceedings Biological Sciences, 2007, 274(1608): 303-313
- [5] Siviter H, Bailes E J, Martin C D, et al. Agrochemicals interact synergistically to increase bee mortality [J]. Nature, 2021, 596(7872): 389-392
- [6] Stokstad E. Pesticides under fire for risks to pollinators [J]. Science, 2013, 340(6133): 674-676
- [7] Fairbrother A, Purdy J, Anderson T, et al. Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2014, 33(4): 719-731
- [8] 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, 426  
Bu Y Q, Shan Z J, Zhou J Y, et al. Research review on biological toxicity and safety assessment of pesticides to honeybee [J]. Agrochemicals, 2009, 48(6): 399-401, 426 (in Chinese)
- [9] 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(6229): 1255957
- [10] 廖建华, 程燕, 卜元卿, 等. 中国主要蜜源作物上登记的农药品种及其中杀虫剂对蜜蜂的初级风险评估[J]. 农药学报, 2018, 20(1): 100-109
- [11] Liao J H, Cheng Y, Bu Y Q, et al. Review of the pesticides registered on major nectar crops in China and the primary risk assessment of the insecticides to honey bees [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2018, 20(1): 100-109 (in Chinese)
- [12] Legard D E, Xiao C L, Mertely J C, et al. Management of *Botrytis* fruit rot in annual winter strawberry using captan, thiram, and iprodione [J]. Plant Disease, 2001, 85(1): 31-39
- [13] Mullin C A, Frazier M, Frazier J L, et al. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health [J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9754
- [14] Fungicide Resistance Action Committee. Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action [EB/OL]. [2021-10-19]. <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2021--final.pdf>
- [15] Fairbrother A, Purdy J, Anderson T, et al. Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2014, 33(4): 719-731
- [16] 王康, 庞倩, 张文文, 等. 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[J]. 昆虫学报, 2017, 60(6): 642-649  
Wang K, Pang Q, Zhang W W, et al. Effects of sublethal doses of carbendazim on the growth and detoxifying enzyme activities of honeybee (*Apis mellifera* ligustica) larvae [J]. Acta Entomologica Sinica, 2017, 60(6): 642-649 (in Chinese)
- [17] 段辛乐, 熊曼琼, 刘文斌, 等. 苜蓿花期三种杀菌剂对意大利蜜蜂保护酶和解毒酶的影响[J]. 草业学报, 2020, 29(11): 74-82  
Duan X L, Xiong M Q, Liu W B, et al. Effects of three fungicides on the activities of protective enzymes and detoxifying enzymes in *Apis mellifera* [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2020, 29(11): 74-82 (in Chinese)
- [18] 代君君, 舒蕊, 刘健, 等. 苯菌灵胁迫对蜜蜂肠道微生物菌群结构的影响[J]. 中国农学通报, 2020, 36(26): 136-140  
Dai J J, Shu R, Liu J, et al. Benomyl stress: Effects on the microbial community structure in the intestine of honey bees [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(26): 136-140 (in Chinese)
- [19] 国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. 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: GB/T 31270.10—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015
- [19] 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 S, Yuan S K, Cai B, et al. The acute oral toxicity of 300 formulated pesticides to *Apis mellifera* [J]. Agrochemicals, 2011, 50(4): 278-280 (in Chinese)
- [20] 苍涛, 王彦华, 俞瑞鲜, 等. 蜜源植物常用农药对蜜蜂急性毒性及风险评价[J]. 浙江农业学报, 2012, 24(5): 853-859  
Cang T, Wang Y H, Yu R X, et al. The acute toxicity and risk assessment of 25 pesticides used in nectar plant to *Apis mellifera* L. [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2012, 24(5): 853-859 (in Chinese)
- [21] 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  
Jia B T, Zou Y F, Dong F S, et al. Acute toxicity and safety evaluation of several fungicides to *Apis mellifera* L. [J]. Apiculture of China, 2015, 66(4): 13-16 (in Chinese)
- [22] 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  
Wang Y J, Gao J L, Han W S, et al. Acute toxicity and hazard assessment of 10 fungicides on *Apis cerana cerana* [J]. Journal of Environmental Entomology, 2017, 39(1): 126-133 (in Chinese)
- [23] Simon-Delso N, San Martin G, Bruneau E, et al. Time-to-death approach to reveal chronic and cumulative toxicity of a fungicide for honeybees not revealed with the standard ten-day test [J]. Scientific Reports, 2018, 8: 7241
- [24] 谭丽超, 葛峰, 程燕, 等. 4 种常用甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的急性毒性评价[J]. 农药科学与管理, 2021, 42(1): 33-38  
Tan L C, Ge F, Cheng Y, et al. Acute toxicity of four commonly used strobilurin fungicides [J]. Pesticide Science and Administration, 2021, 42(1): 33-38 (in Chinese)
- [25] 叶莹. 制剂对蜜蜂的毒性[J]. 世界农药, 2015, 37(6): 31-36, 45  
Ye X. Toxicity of preparation to bees [J]. World Pesticides, 2015, 37(6): 31-36, 45 (in Chinese)
- [26] 黄少康. 蜜蜂生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011: 140-144
- [27] 范荣莉. 多菌灵胁迫对意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)健康的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2020: 2-4  
Fan R L. Effects of carbendazim stress on the health of honeybee(*Apis mellifera ligustica*) [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020: 2-4 (in Chinese)
- [28] Metz B N, Wu-Smart J, Simone-Finstrom M. Proceedings of the 2020 American bee research conference [J]. Insects, 2020, 11(6): 362
- [29] Fisher A 2nd, Degrandi-Hoffman G, Smith B H, et al. Colony field test reveals dramatically higher toxicity of a widely-used mito-toxic fungicide on honey bees (*Apis mellifera*) [J]. Environmental Pollution, 2021, 269: 115964
- [30] Eduardo da Costa Domingues C, Bello Inoue L V, Mathias da Silva-Zacarin E C, et al. Foragers of Africanized honeybee are more sensitive to fungicide pyraclostrobin than newly emerged bees [J]. Environmental Pollution, 2020, 266(Pt 2): 115267
- [31] Tadei R, Domingues C E C, Malaquias J B, et al. Late effect of larval co-exposure to the insecticide clothianidin and fungicide pyraclostrobin in Africanized *Apis mellifera* [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 3277
- [32] Liao L H, Wu W Y, Dad A, et al. Fungicide suppression of flight performance in the honeybee (*Apis mellifera*) and its amelioration by quercetin [J]. Proceedings Biological Sciences, 2019, 286(1917): 20192041
- [33] Traynor K S, VanEngelsdorp D, Lamas Z S. Social disruption: Sublethal pesticides in pollen lead to *Apis mellifera* queen events and brood loss [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 214: 112105
- [34] Dai P L, Jack C J, Mortensen A N, et al. The impacts of chlorothalonil and diflubenzuron on *Apis mellifera* L. larvae reared *in vitro* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 164: 283-288
- [35] Zhu W Y, Schmehl D R, Mullin C A, et al. Four common pesticides, their mixtures and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honey bee larvae [J]. PLoS One, 2014, 9(1): e77547
- [36] O'Neal S T, Reeves A M, Fell R D, et al. Chlorothalonil exposure alters virus susceptibility and markers of immunity, nutrition, and development in honey bees [J]. Journal of Insect Science (Online), 2019, 19(3): 14
- [37] Tomé H V V, Schmehl D R, Wedde A E, et al. Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bees [J]. Environmental Pollution, 2020, 256: 113420
- [38] Walsh E M, Sweet S, Knap A, et al. Queen honey bee (*Apis mellifera*) pheromone and reproductive behavior are affected by pesticide exposure during development [J]. Behavioral Ecology and Sociobiology, 2020, 74(3): 1-14
- [39] 陈恒. 多菌灵和东方蜜蜂微孢子虫共同胁迫对工蜂发育的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2021: 35-42  
Chen H. Effect of interactions between carbendazim and

- Nosema ceranae* on the development of worker bees [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021: 35-42 (in Chinese)
- [40] Degrandi-Hoffman G, Corby-Harris V, DeJong E W, et al. Honey bee gut microbial communities are robust to the fungicide Pristine® consumed in pollen [J]. *Apidologie*, 2017, 48(3): 340-352
- [41] Johnson R M, Percel E G. Effect of a fungicide and spray adjuvant on queen-rearing success in honey bees (Hymenoptera: Apidae) [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2013, 106(5): 1952-1957
- [42] Degrandi-Hoffman G, Chen Y P, Simonds R. The effects of pesticides on queen rearing and virus titers in honey bees (*Apis mellifera* L.) [J]. *Insects*, 2013, 4(1): 71-89
- [43] Milone J P, Chakrabarti P, Sagili R R, et al. Colony-level pesticide exposure affects honey bee (*Apis mellifera* L.) royal jelly production and nutritional composition [J]. *Chemosphere*, 2021, 263: 128183
- [44] Tamburini G, Wintermantel D, Allan M J, et al. Sulfoxaflor insecticide and azoxystrobin fungicide have no major impact on honeybees in a realistic-exposure semi-field experiment [J]. *The Science of the Total Environment*, 2021, 778: 146084
- [45] Caliani I, Campani T, Conti B, et al. Multi-biomarker approach and IBR index to evaluate the effects of different contaminants on the ecotoxicological status of *Apis mellifera* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 208: 111486
- [46] Tadei R, Menezes-Oliveira V B, Silva-Zacarin E C M. Silent effect of the fungicide pyraclostrobin on the larval exposure of the non-target organism Africanized *Apis mellifera* and its interaction with the pathogen *Nosema ceranae* in adulthood [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 267: 115622
- [47] Batista A C, Domingues C E D C, Costa M J, et al. Is a strobilurin fungicide capable of inducing histopathological effects on the midgut and Malpighian tubules of honey bees? [J]. *Journal of Apicultural Research*, 2020, 59(5): 834-843
- [48] Carneiro L S, Martínez L C, Gonçalves W G, et al. The fungicide iprodione affects midgut cells of non-target honey bee *Apis mellifera* workers [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 189: 109991
- [49] Gregorc A, Ellis J D. Cell death localization *in situ* in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2011, 99(2): 200-207
- [50] Zaluski R, Bittarello A C, Vieira J C S, et al. Modification of the head proteome of nurse honeybees (*Apis mellifera*) exposed to field-relevant doses of pesticides [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 2190
- [51] Nicodemo D, Mingatto F E, Jong D D, et al. Mitochondrial respiratory inhibition promoted by pyraclostrobin in fungi is also observed in honey bees [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2020, 39(6): 1267-1272
- [52] Prado A, Pioz M, Vidau C, et al. Exposure to pollen-bound pesticide mixtures induces longer-lived but less efficient honey bees [J]. *The Science of the Total Environment*, 2019, 650(Pt 1): 1250-1260
- [53] Mao W F, Schuler M A, Berenbaum M R. Disruption of quercetin metabolism by fungicide affects energy production in honey bees (*Apis mellifera*) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(10): 2538-2543
- [54] Han W S, Wang Y J, Gao J L, et al. Acute toxicity and sublethal effects of myclobutanil on respiration, flight and detoxification enzymes in *Apis cerana cerana* [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018, 147: 133-138
- [55] Christen V, Krebs J, Fent K. Fungicides chlorothanolin, azoxystrobin and folpet induce transcriptional alterations in genes encoding enzymes involved in oxidative phosphorylation and metabolism in honey bees (*Apis mellifera*) at sublethal concentrations [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 377: 215-226
- [56] Degrandi-Hoffman G, Chen Y P, Watkins Dejong E, et al. Effects of oral exposure to fungicides on honey bee nutrition and virus levels [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2015, 108(6): 2518-2528
- [57] Dai J J, Shu R, Liu J, et al. Transcriptome analysis of *Apis mellifera* under benomyl stress to discriminate the gene expression in response to development and immune systems [J]. *Journal of Environmental Science and Health Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 2021, 56(6): 594-605
- [58] Glavinic U, Tesovnik T, Stevanovic J, et al. Response of adult honey bees treated in larval stage with prochloraz to infection with *Nosema ceranae* [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e6325
- [59] Shi T F, Burton S, Zhu Y J, et al. Effects of field-realistic concentrations of carbendazim on survival and physiology in forager honey bees (Hymenoptera: Apidae) [J]. *Journal of Insect Science (Online)*, 2018, 18(4): 6
- [60] Wang K, Fan R L, Ji W N, et al. Transcriptome analysis of newly emerged honeybees exposure to sublethal carbendazim during larval stage [J]. *Frontiers in Genetics*, 2018, 9: 426

- [61] Wang Y H, Zhu Y C, Li W H. Comparative examination on synergistic toxicities of chlorpyrifos, acephate, or tetraconazole mixed with pyrethroid insecticides to honey bees (*Apis mellifera* L.) [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(7): 6971-6980
- [62] 李晨伊, 周欣, 郑浩. 蜜蜂肠道微生物群落研究进展[J]. 微生物学报, 2018, 58(6): 1016-1024
- Li C Y, Zhou X, Zheng H. Gut microbiota of social honey bees [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 58(6): 1016-1024 (in Chinese)
- [63] Kakumanu M L, Reeves A M, Anderson T D, et al. Honey bee gut microbiome is altered by in-hive pesticide exposures [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1255
- [64] Paris L, Peghaire E, Moné A, et al. Honeybee gut microbiota dysbiosis in pesticide/parasite co-exposures is mainly induced by *Nosema ceranae* [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2020, 172: 107348
- [65] Peghaire E, Moné A, Delbac F, et al. A *Pediococcus* strain to rescue honeybees by decreasing *Nosema ceranae*- and pesticide-induced adverse effects [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2020, 163: 138-146
- [66] 李振芳, 刘振国, 胥保华, 等. 蜜蜂行为学研究概述[J]. 蜜蜂杂志, 2019, 39(10): 5-11
- Li Z F, Liu Z G, Xu B H, et al. Advances in behavioral researches of honeybee [J]. Journal of Bee, 2019, 39(10): 5-11 (in Chinese)
- [67] Tosi S, Nieh J C. Lethal and sublethal synergistic effects of a new systemic pesticide, flupyradifurone (Sivanto), on honeybees [J]. Proceedings Biological Sciences, 2019, 286(1900): 20190433
- [68] Migdał P, Roman A, Popiela E, et al. The impact of selected pesticides on honey bees [J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2018, 27(2): 787-792
- [69] DesJardins N S, Fisher A 2nd, Ozturk C, et al. A common fungicide, Pristine®, impairs olfactory associative learning performance in honey bees (*Apis mellifera*) [J]. Environmental Pollution, 2021, 288: 117720
- [70] 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(2): 242-250
- [71] Glass J R, Fisher A II, Fewell J H, et al. Consumption of field-realistic doses of a widely used mito-toxic fungicide reduces thorax mass but does not negatively impact flight capacities of the honey bee (*Apis mellifera*) [J]. Environmental Pollution, 2021, 274: 116533
- [72] Tschoeke P H, Oliveira E E, Dalcin M S, et al. Botanical and synthetic pesticides alter the flower visitation rates of pollinator bees in neotropical melon fields [J]. Environmental Pollution, 2019, 251: 591-599
- [73] Jaffe B D, Lois A N, Guédot C. Effect of fungicide on pollen foraging by honeybees (Hymenoptera: Apidae) in cranberry differs by fungicide type [J]. Journal of Economic Entomology, 2018, 112(1): 499-503
- [74] Stejskalová M, Konradýová V, Kazda J. The influence of pesticides repellency used in oilseed rape (*Brassica napus* subsp. *napus*) on the preference by bees (*Apis mellifera* L.) [J]. Journal of Apicultural Research, 2021, 60(2): 270-276
- [75] Manning P, Ramanaidu K, Cutler G C. Honey bee survival is affected by interactions between field-relevant rates of fungicides and insecticides used in apple and blueberry production [J]. Facets, 2017, 2(2): 910-918
- [76] Wade A, Lin C H, Kurkul C, et al. Combined toxicity of insecticides and fungicides applied to California almond orchards to honey bee larvae and adults [J]. Insects, 2019, 10(1): E20
- [77] Tomé H V, Ramos G S, Araújo M F, et al. Agrochemical synergism imposes higher risk to neotropical bees than to honeybees [J]. Royal Society Open Science, 2017, 4(1): 160866
- [78] Johnson R M, Dahlgren L, Siegfried B D, et al. Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*) [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54092
- [79] Almasri H, Tavares D A, Pioz M, et al. Mixtures of an insecticide, a fungicide and a herbicide induce high toxicities and systemic physiological disturbances in winter *Apis mellifera* honey bees [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 203: 111013
- [80] Han W S, Yang Y M, Gao J L, et al. Chronic toxicity and biochemical response of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) exposed to acetamiprid and propiconazole alone or combined [J]. Ecotoxicology, 2019, 28(4): 399-411
- [81] Jiang X C, Wang Z W, He Q B, et al. The effect of neonicotinoid insecticide and fungicide on sugar responsiveness and orientation behavior of honey bee (*Apis mellifera*) in semi-field conditions [J]. Insects, 2018, 9(4): E130
- [82] Zhu Y C, Yao J X, Adamczyk J, et al. Feeding toxicity and impact of imidacloprid formulation and mixtures with six representative pesticides at residue concentrations on honey bee physiology (*Apis mellifera*) [J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0178421

- [83] Zaluski R, Justulin L A Jr, Orsi R O. Field-relevant doses of the systemic insecticide fipronil and fungicide pyraclostrobin impair mandibular and hypopharyngeal glands in nurse honeybees (*Apis mellifera*) [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 15217
- [84] Domingues C E C, Abdalla F C, Balsamo P J, et al. Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepato-nephrotoxic system of the Africanized honeybee [J]. Chemosphere, 2017, 186: 994-1005
- [85] Cizelj I, Glavan G, Božič J, et al. Prochloraz and coumaphos induce different gene expression patterns in three developmental stages of the Carniolan honey bee (*Apis mellifera carnica* Pollmann) [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2016, 128: 68-75
- [86] 李慧, 曹芳杰, 邱立红. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂对水生生物的生态毒理学研究进展[J]. 农药学报, 2019, 21(S1): 831-840
- Li H, Cao F J, Qiu L H. Research progress of the ecotoxicology of strobilurins on aquatic organisms [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2019, 21(S1): 831-840 (in Chinese)
- [87] 贾伟, 蒋红云, 张兰, 等. 4种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂不同剂型对斑马鱼急性毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(6): 242-251
- Jia W, Jiang H Y, Zhang L, et al. Acute toxicity of different formulation of four strobilurin fungicides to the zebrafish (*Brachydonio rerio*) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(6): 242-251 (in Chinese)
- [88] 中华人民共和国农业部. 农药登记 环境风险评估指南 第4部分: 蜜蜂: NY/T 2882.4—2016[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016
- [89] Biddinger D J, Rajotte E G. Integrated pest and pollinator management-adding a new dimension to an accepted paradigm [J]. Current Opinion in Insect Science, 2015, 10: 204-209
- ◆