

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200706002

李岗, 徐吉洋, 郭海坤, 等. 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对3种昆虫的急性毒性与初级风险评估[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(4): 323-333

Li G, Xu J Y, Guo H K, et al. Acute toxicity and primary risk assessment of 75% tebuconazole·azoxystrobin SP to three insect species [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(4): 323-333 (in Chinese)

75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对3种昆虫的急性毒性与初级风险评估

李岗^{1,2,3,4}, 徐吉洋^{1,2,3,4}, 郭海坤^{1,2,3,4}, 吕露^{1,2,3,4}, 柳新菊^{1,2,3,4,*}

1. 浙江省农业科学院农产品质量与营养研究所, 杭州 310021
2. 农业农村部农药检测重点实验室, 杭州 310021
3. 浙江省农药残留检测与控制研究重点实验室, 杭州 310021
4. 农产品质量安全危害因子与风险防控国家重点实验室(筹), 杭州 310021

收稿日期: 2020-07-06 录用日期: 2020-09-27

摘要: 为明确 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对意大利蜜蜂、玉米螟赤眼蜂和家蚕的急性毒性和初级风险。采用国标《化学农药环境安全评价试验准则》(GB/T 31270—2014)中的 4 种方法, 包括饲喂法(蜜蜂经口)、点滴法(蜜蜂接触)、药膜法(赤眼蜂)和浸叶法(家蚕), 分别测定了该农药对上述 3 种非靶标昆虫的急性毒性, 并根据国标《农药登记 环境风险评估指南》(NY/T 2882—2016)把这些结果用于该药的初级风险评估。结果表明, 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对意大利蜜蜂的急性接触毒性 48 h 半致死剂量(48 h-LD₅₀)为 >105 μg·蜂⁻¹, 急性经口毒性 48 h-LD₅₀ 为 65.9 μg·蜂⁻¹, 对蜜蜂的风险可接受(风险商(RQ)=0.135 ≤ 1)。对玉米螟赤眼蜂的急性毒性 24 h 半致死用量(24 h-LR₅₀)为 2.81×10⁻⁶ mg·cm⁻², 对玉米螟赤眼蜂的农田内和农田外喷雾场景风险均不可接受(危害商 HQ_{in}=1 199>5, HQ_{off}=24.2>5)。对家蚕的急性毒性 96 h 半致死浓度(96 h-LC₅₀)为 596 mg·L⁻¹, 对家蚕的喷雾场景下的最外围桑树风险不可接受(RQ=7.47>1), 次外围桑树风险可接受(RQ=0.457≤1)。对不可接受的风险, 宜采取风险减轻措施, 如喷雾施药期间禁止释放赤眼蜂, 避免在桑园周围喷雾法施药等, 以达到保护非靶标环境生物的目的。

关键词: 戊唑醇; 啉菌酯; 意大利蜜蜂; 玉米螟赤眼蜂; 家蚕; 环境风险评估

文章编号: 1673-5897(2021)4-323-11 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Acute Toxicity and Primary Risk Assessment of 75% Tebuconazole·Azoxystrobin SP to Three Insect Species

Li Gang^{1,2,3,4}, Xu Jiyang^{1,2,3,4}, Guo Haikun^{1,2,3,4}, Lv Lu^{1,2,3,4}, Liu Xinju^{1,2,3,4,*}

1. Institute of Agro-Product Safety and Nutrition, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China
2. Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory for Pesticide Residue Detection, Hangzhou 310021, China
3. Key Laboratory for Zhejiang Pesticide Residue Detection and Control, Hangzhou 310021, China
4. State Key Laboratory for Managing Biotic and Chemical Threats to Quality and Safety of Agro-products, Hangzhou 310021, China

Received 6 July 2020 accepted 27 September 2020

Abstract: To identify the acute toxicity and risk of 75% tebuconazole·azoxystrobin soluble powder (SP) to honeybees (*Apis mellifera*), *Trichogramma* wasp (*Trichogramma ostrinae*), and silkworm (*Bombyx mori*), we used

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目(LGN18B070003)

第一作者: 李岗(1973—), 男, 博士, 研究方向为农药应用及环境安全性评价, E-mail: lgxjren@qq.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: liuxj@mail.zaas.ac.cn

four acute toxicity methods: oral-feeding and droplet-touching for honeybees, a drug film for *T. ostriniae*, and soaked leaves for silkworm. These were based on the China standard *Test Guidelines on Environmental Safety Assessment for Chemical Pesticides* (GB/T 31270—2014). The results were then used for primary risk assessments according to the China standard, *Guidance on Environmental Risk Assessment for Pesticide Registration* (NY/T 2882—2016). The 48 h median lethal dose (48 h-LD₅₀) of acute oral toxicity and acute contact toxicity of the test substance to honeybees were 65.9 $\mu\text{g a.i.}\cdot\text{bee}^{-1}$ > 105 $\mu\text{g a.i.}\cdot\text{bee}^{-1}$; the risk to honeybee was acceptable (risk quotients, RQ=0.135 $\leq$ 1). The 24 h median lethal rate (24 h-LR₅₀) to *T. ostriniae* was $2.81\times 10^{-6}\text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}$; the risk to *T. ostriniae* was unacceptable for in-field and off-field exposure scenario (hazard quotients, HQ_{in}=1 199>5, HQ_{off}=24.2>5). The 96 h median lethal concentration (96 h-LC₅₀) to silkworm was 596 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; the risk to silkworm was unacceptable in drift exposure scenarios with first row of mulberry tree in periphery (RQ=7.47>1), and acceptable in drift exposure scenarios with second row of mulberry tree in periphery (RQ=0.457 $\leq$ 1). Measures should be taken to mitigate unacceptable risks to non-target species, such as prohibiting the release of *T. ostriniae* during application of the pesticide, and avoidance of spraying near mulberry fields.

Keywords: tebuconazole; azoxystrobin; *Apis mellifera*; *Trichogramma ostriniae*; *Bombyx mori*; environment risk assessment

蜜蜂参与约87.5%的虫媒植物授粉,包括87种主要粮食作物,蜜蜂不但对生态系统的稳定有重要作用,而且对世界粮食生产有着极为重要的作用^[1-3]。赤眼蜂是膜翅目寄生性天敌昆虫,有620余种^[4],可寄生400多种害虫,尤其是鳞翅目害虫,广泛用于农林害虫的防治,是国内外研究最多和应用最广的天敌昆虫之一,为我国的农业生产做出巨大贡献^[5-6]。家蚕是一种原产于我国的鳞翅目泌丝昆虫,桑叶是其唯一食料,家蚕已有5 000年人工驯化史,目前养蚕业仍然是许多农民的主要收入来源^[7-9]。

农药是当前农业生产中不可替代的生产资料,可减少约15%~25%的由病虫害引起的作物产量损失^[10]。但是农药在生产中的使用方式、方法,不可避免地使上述非靶标益虫暴露其中,造成中毒事件频发。例如,自2006年以来在美洲和欧洲爆发的蜂群衰竭失调症(colony collapse disorder, CCD)^[11]。稻田农药造成稻螟赤眼蜂显著的羽化畸形^[12]。我国南方水稻和桑树混栽区多有家蚕农药中毒事件^[13]。农药和非靶标益虫之间的矛盾引起“产学研”各方的极大关注,认为农药的不合理使用是造成上述非靶标益虫害的主要原因^[1],在分析农药的毒性、用法和用量等综合信息的基础上,提出将农药的风险评估作为农药管理的有效措施。国际经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)、欧洲及地中海植物保护组织(European and Mediterranean Plant Protection Organi-

zation, EPPO)和欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)等都制定了农药对蜜蜂风险评估的相关标准和指南^[14-17]。在我国,2014年以来相继发布了《化学农药环境安全评价试验准则》(GB/T 31270—2014)^[18-20]和《农药登记 环境风险评估指南》(NY/T 2882—2016)^[21-23]。

在农业生产中,杀虫剂对有益昆虫的毒性研究较多,而杀菌剂的风险经常被忽略,但是杀菌剂对有益昆虫亦有毒害,如百菌清对赤眼蜂有较高毒性风险^[24]。而现在阶段用量最大的2种杀菌剂三唑类和甲氧基丙烯酸酯类的复配剂对蜜蜂、赤眼蜂和家蚕的风险研究较少。

戊唑醇是由德国拜耳公司于1986年开发的三唑类杀菌剂,具有抑制植物病原菌细胞膜成分麦角甾醇脱甲基活性^[25],对植物白粉病等防效优异,1998年首先在法国登记以来,已在50多个国家的60多种作物上登记使用。1995年在我国首次登记,2008年国内有32家企业登记生产戊唑醇原药^[26]。戊唑醇的连年大量使用导致病原物抗药性问题突出^[25,27-28],进而造成含有戊唑醇的复配剂大量出现。截至2020年,我国共登记含戊唑醇农药766个,其中,原药49个,单剂324个,复配剂393个^[29]。

甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂来源于Strobilurin类微生物,捷利康(现为先正达)于20世纪80年代首先发现其生物活性,现已经成为全球市场最大的杀菌剂类别,代表品种有嘧菌酯等,可抑制线粒体呼吸活性。嘧菌酯由捷利康(现为先正达)于1997年登

记上市,是世界上用量最大的杀菌剂品种^[30]。截至2013年,已经有小麦等几十种作物的60余种植物病原真菌对甲氧基丙烯酸酯类农药产生了抗药性^[31]。这促使含甲氧基丙烯酸酯类复配剂的出现,截至2020年,我国共登记含啉菌酯农药589个^[29]。

本研究根据国标实验准则,开展了戊唑醇和啉菌酯复配剂对蜜蜂、赤眼蜂和家蚕的风险评估,旨在为我国农药的安全合理使用提供科学依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 试验材料

1.1.1 供试生物

根据《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)^[18],选择意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.)以下简称蜜蜂为试验生物,从浙江省义乌市佛堂镇王焕兴蜂场引入后常规饲养。试验时选择个体大小一致的健康成年工蜂,急性经口毒性试验暴露前还需要饥饿2 h。

根据《化学农药环境安全评价试验准则第17部分:天敌赤眼蜂急性毒性试验》(GB/T 31270.17—2014)^[19],选择玉米螟赤眼蜂(*Trichogramma ostrini-ae*),以下简称赤眼蜂,作为寄生性非靶节肢动物的代表生物,供试赤眼蜂卵从河北省农林科学院旱作农业研究所衡水市田益生防有限责任公司引入。试验用寄生卵置于温度23~27℃、相对湿度50%~80%的避光条件下预培养,48 h内羽化的成蜂用于急性毒性试验。

根据《化学农药环境安全评价试验准则第11部分:家蚕急性毒性试验》(GB/T 31270.11—2014)^[20],选择品种为“皓月×菁松”的家蚕(*Bombyx mori*)作为试验生物,蚕种从浙江省农业科学院蚕桑研究所引入,暴露前培养至2龄起蚕。

1.1.2 试验农药与主要试剂

75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂(江苏省南京惠宇农化有限公司),喷雾法(一个作物生长季喷雾3次,间隔期为7 d)防治水稻纹枯病和稻曲病,制剂用药量为150~225 g;98%乐果原药(湖南海利化工股份有限公司);丙酮(分析纯,永华化学科技(江苏)有限公司);蔗糖(江苏白玫瑰糖业有限公司);去离子水(杭州洁露纯净水厂);吐温80(分析纯,天津大茂化学试剂厂);有机硅(广东中迅农科股份有限公司);蜂蜜(宁波源彬蜂业发展有限公司)。

1.1.3 主要仪器和设备

蜜蜂急性毒性试验:JA1003型电子天平(上海天平仪器厂,中国),SPS402F型电子天平(梅特勒-托利多常州测量技术有限公司,中国),Burkard PDE0003手动型微量点滴仪(Burkard Scientific公司,英国),MDH-616-A型除湿机(MORII公司,日本),DSR-TH-RA型温湿度记录仪(佐格微系统有限公司,中国),1 mL、5 mL移液枪(Eppendorf公司,德国)等。

赤眼蜂急性毒性试验:BSA223S型电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司,中国),三洋MLR-351H植物培养箱(日本三洋电机株式会社,日本),KQ2200型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,中国),DSR-TH-RA温湿度记录仪(佐格微系统有限公司,中国),1 mL、5 mL移液枪(Eppendorf公司,德国),RXK-7型烤热狗机(上海一喜食品机械有限公司,中国),试验用指形管(直径20 mm,长80 mm,内表面积为53.38 cm²)等。

家蚕急性毒性试验:JA2603B电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司,中国),MLR-351H植物培养箱(日本三洋电机株式会社,日本),DSR-TH-RA温湿度记录仪(佐格微系统有限公司,中国),玻璃培养皿(直径为9 cm)等。

1.2 试验方法

1.2.1 乐果(参照物)对蜜蜂急性接触毒性试验

将98%乐果溶解在丙酮中配制成浓度为0.360、0.277、0.213、0.164、0.126和0.0970 g·L⁻¹的药液,同时设置助剂丙酮对照组和空白对照组。根据《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)^[18]要求,采用点滴法进行暴露,试验时,用手动微量点滴仪在每只蜜蜂中胸背板处,分别点滴上述试验药液1 μL,助剂对照组用丙酮点滴1 μL,待药液挥发后将蜜蜂移入蜂笼中,用脱脂棉浸泡适量50%蔗糖水(*m:m*),通过网眼供蜜蜂摄食。空白对照组直接饲喂50%蔗糖水。处理组和对照组均设3个重复,每个重复10只蜜蜂(成年工蜂)。在温度23~27℃、相对湿度50.0%~70.0%的黑暗条件下,试验48 h。在暴露后24 h和48 h时调查试验蜜蜂死亡数。

1.2.2 乐果(参照物)对蜜蜂急性经口毒性试验

先将98%乐果溶解在丙酮中配成母液,再用50%蔗糖水溶液(*m:m*)(含0.1% (V:V)吐温80)稀释该母液得到浓度为9.60×10⁻³、7.68×10⁻³、6.14×10⁻³、4.92×10⁻³、3.93×10⁻³和3.15×10⁻³ g·L⁻¹试验药液。同

时设置 50% 蔗糖水溶液($m:m$)对照组和含最高浓度助剂的 50% 蔗糖水溶液($m:m$)对照组。根据《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)^[18]要求, 采用经口饲喂法暴露, 在饲喂器中加入 200 μL 上述浓度试验溶液, 饲喂 3~4 h 后测定消耗量。换用不含被试物的 50% 蔗糖水溶液($m:m$)进行饲喂。处理组和对照组均设 3 个重复, 每个重复 10 只蜜蜂(成年工蜂)。在温度 23~27 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 50.0%~70.0% 的黑暗条件下, 试验 48 h。在 24 h 和 48 h 时调查受试蜜蜂死亡数。

1.2.3 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对蜜蜂急性接触毒性试验

用 0.02% 有机硅水($V:V$)将 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂配制成浓度为 105 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 试验溶液, 进行限度试验, 同时设置溶剂 0.02% 有机硅水溶液($V:V$)对照组和空白对照组。暴露方法、试验条件和症状调查方法同 1.2.1。

1.2.4 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对蜜蜂急性经口毒性试验

用去离子水将 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂配制成母液, 然后用去离子水配制 50% 蔗糖水溶液($m:m$), 用该蔗糖水溶液稀释母液得到浓度 1.49、2.08、2.92、4.08、5.71 和 8.00 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 试验溶液, 同时设置 50% 蔗糖水溶液($m:m$)为空白对照组。暴露方法、试验条件和症状调查方法同 1.2.2。

1.2.5 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对赤眼蜂急性毒性试验

用丙酮将 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂配制成浓度 2.00×10^{-5} 、 1.00×10^{-5} 、 5.00×10^{-6} 、 2.50×10^{-6} 、 1.25×10^{-6} 和 6.25×10^{-7} $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$ 试验溶液, 同时设置丙酮空白对照。根据《化学农药环境安全评价试验准则第 17 部分: 天敌赤眼蜂急性毒性试验》(GB/T 31270.17—2014)^[19], 采用“药膜法”暴露。取上述药液 0.500 mL 加入指形管中滚吸成药膜管, 待指形管药膜干后, 将羽化后 48 h 内的成蜂移入药膜管中爬行 1 h 后转入无药指形管, 用黑布封口并饲喂蜂蜜水。每管转入赤眼蜂约 100 头, 每个处理 3 个重复, 每管为 1 个重复。试验组和对照组同时进行。在温度 23~27 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 50.0%~80.0% 的黑暗条件下试验, 并在 1 h 和 24 h 时调查赤眼蜂死亡数。

1.2.6 乐果(参照物)对家蚕急性毒性试验

用去离子水将 98% 乐果配制成浓度 1.93×10^3 、 2.31×10^3 、 2.78×10^3 、 3.33×10^3 、 4.00×10^3 和 4.80×10^3

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 药液, 同时设置空白对照组。根据《化学农药环境安全评价试验准则第 11 部分: 家蚕急性毒性试验》(GB/T 31270.11—2014)^[20]的规定, 试验采用“浸叶法”暴露。试验时, 分别将整张桑叶浸没于上述试验溶液中, 时间约为 10 s, 自然晾干后剪成长条形并转入培养皿中。将 2 龄起蚕置于培养皿中桑叶表面, 每皿 20 头, 每处理 3 个重复, 每一培养皿为 1 个重复。在温度 23~27 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 70.0%~85.0%、光暗比 16 h:8 h 条件下试验。试验期间以新鲜桑叶饲养家蚕。在暴露后 24、48、72 和 96 h, 调查各处理组家蚕的中毒症状和死亡情况。

1.2.7 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂家蚕急性毒性试验

用离子水中将 75% 戊唑·啉菌酯可溶性粉剂配制成浓度 394、473、980、567、681 和 817 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 试验溶液, 同时设置空白对照。暴露方法、试验条件和症状调查方法同 1.2.6。

1.3 急性毒性试验的数据处理

采用寇氏法^[18-20]计算 LD_{50} (LC_{50} 或 LR_{50})及其各自 95% 置信限。 $\log \text{LD}_{50} = X_m - i \times (\sum P - 0.5)$, 式中: X_m 为最高浓度的对数; i 为相邻浓度对数的比值; $\sum P$ 为各组死亡率的总和(以小数表示)。 $\log \text{LD}_{50}$ 的 95% 置信限 $= \log \text{LD}_{50} \pm 1.96 S \log \text{LD}_{50}$, 式中: $S \log \text{LD}_{50} = i \times (\sum pq/n)^{1/2}$, 式中: p 为 1 个组的死亡率; q 为 $1-p$; n 为各浓度组蜜蜂的数量。

2 结果(Results)

2.1 乐果(参照物)对蜜蜂的急性毒性

用寇氏法计算得到参照物乐果对蜜蜂接触毒性 24 h- LD_{50} 为 0.177 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ (95% 置信限为 0.161~0.196 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$), 48 h- LD_{50} 为 0.174 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ (95% 置信限为 0.158~0.192 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$)。试验开始至试验结束时, 对照组死亡率不超过 10%; 乐果对该批次试验蜜蜂的急性接触毒性 24 h- LD_{50} 在《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)^[18]要求的 0.10~0.30 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ 范围之内, 符合试验有效性要求, 说明试验蜜蜂、条件和方法符合试验要求, 试验有效。

用寇氏法计算得到参照物乐果对蜜蜂经口毒性 24 h- LD_{50} 为 0.168 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ (95% 置信限为 0.166~0.170 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$), 48 h- LD_{50} 为 0.167 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$ (95% 置信限为 0.165~0.189 $\mu\text{g}\cdot\text{蜂}^{-1}$)。试验开始至试验结束时, 对照组死亡率不超过 10%; 乐果对该批次

验蜜蜂的急性经口毒性 24 h-LD₅₀ 在《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)^[18]要求的 0.10 ~ 0.35 μg·蜂⁻¹范围之内,符合试验有效性要求,说明试验蜜蜂、条件和方法符合试验要求,试验有效。

2.2 75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对蜜蜂的急性毒性和初级风险评估

2.2.1 75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对蜜蜂的急性毒性

试验蜜蜂暴露于75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂后,在48 h内未见明显异常。其对蜜蜂急性接触毒性 48 h-LD₅₀>105 μg·蜂⁻¹。根据《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)^[18]中农药对蜜蜂的毒性分级标准,该药对蜜蜂 48 h 的急性接触毒性为“低毒”级。

用寇氏法计算得到 75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对蜜蜂的急性经口 48 h-LD₅₀ 为 65.9 μg·蜂⁻¹, 95%置信限为 52.6 ~ 112 μg·蜂⁻¹。根据《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)^[18]中农药对蜜蜂的毒性分级标准,该药对蜜蜂 48 h 的急性经口毒性为“低毒”级。

2.2.2 75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对蜜蜂初级风险评估

2.2.2.1 蜜蜂初级暴露分析

75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂,用喷雾法防治水稻纹枯病和稻曲病时,制剂用药量为 150 ~ 225 g·hm⁻²,使用时间为水稻发病时,此时在水稻田中有开花的植物,因此蜜蜂有暴露可能,需进行风险评估。根据指南《农药登记 环境风险评估指南第 4 部分: 蜜蜂》(NY/T 2882.4—2016)^[21],直接采用其单次最高施药剂量 169 g·hm⁻²作为预测暴露剂量(PED)。

2.2.2.2 蜜蜂初级效应分析

根据指南《农药登记 环境风险评估指南第 4 部分: 蜜蜂》(NY/T 2882.4—2016)^[21],在喷施场景下,初级效应分析仅使用蜜蜂急性经口或急性接触毒性中毒性较高的 LD₅₀ 作为预测无效应浓度(PNED)。当同时具备有效成分及其制剂产品的 LD₅₀ 时,应选择毒性较高的数据。75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对蜜蜂急性接触 48 h-LD₅₀>105 μg·蜂⁻¹,急性经口 48 h-LD₅₀=65.9 μg·蜂⁻¹,而从英国农药电子手册^[32]查得戊唑醇对蜜蜂接触毒性 48 h-LD₅₀>200 μg·

蜂⁻¹,经口毒性 48 h-LD₅₀>83 μg·蜂⁻¹,啉菌酯对蜜蜂的经口毒性 48 h-LD₅₀>25 μg·蜂⁻¹,接触毒性 48 h-LD₅₀>200 μg·蜂⁻¹。因此选择啉菌酯对蜜蜂的经口 48 h-LD₅₀ 值 25 μg·蜂⁻¹作为 PNED。

2.2.2.3 蜜蜂初级风险表征

对蜜蜂的初级风险用风险商值(RQ_{sp})表征,按公式 $RQ_{sp} = AR / (LD_{50} \times 50)$ 计算,式中: RQ_{sp} 为喷施农药暴露场景的风险商值; AR 为推荐的农药单次最高施药剂量,取值 169 g·hm⁻²; LD₅₀ 为经口或接触的蜜蜂半致死剂量,取值为 25 μg·蜂⁻¹。代入数据,最终计算得 RQ_{sp}=0.135。根据《农药登记 环境风险评估指南第 4 部分: 蜜蜂》(NY/T 2882.4—2016)^[21],判定该药对蜜蜂风险可接受(RQ_{sp}≤1)。

2.3 75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对赤眼蜂的急性毒性和初级风险评估

2.3.1 75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对赤眼蜂的急性毒性

用寇氏法计算得75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对赤眼蜂的 24 h-LR₅₀ 为 2.81×10^{-6} mg·cm⁻², 即 0.281 g·hm⁻², 95%置信限为 $2.16 \times 10^{-6} \sim 3.65 \times 10^{-6}$ mg·cm⁻²。安全系数=LR₅₀/单位面积施用浓度,计算得 0.002,根据国标《化学农药环境安全评价试验准则第 17 部分: 天敌赤眼蜂急性毒性试验》(GB/T 31270.17—2014)^[19]的农药对赤眼蜂的风险等级标准,该药对赤眼蜂有极高的风险。

2.3.2 75%戊唑·啉菌酯可溶性粉剂对赤眼蜂的初级风险评估

2.3.2.1 赤眼蜂初级暴露分析

赤眼蜂的暴露情形与蜜蜂类似,故对其进行风险评估。根据指南《农药登记 环境风险评估指南第 7 部分: 非靶节肢动物》(NY/T 2882.7—2016)^[22],分为农田内暴露和农田外暴露 2 种场景。

(1) 赤眼蜂农田内暴露场景初级暴露分析

农田内的预测暴露量 $PER_m = AR \times MAF$, 式中: PER_m 为农田内预测暴露量(g·hm⁻²); AR 为推荐的单位面积农药最高施药剂量(g·hm⁻²),数据值为 169 g·hm⁻²; MAF 为多次施药因子,按照 $MAF = (1 - e^{-n \times i \times \ln 2 / DT_{50}}) / (1 - e^{-i \times \ln 2 / DT_{50}})$ 计算,其中, n 为施药次数,这里取 3 次; i 为施药间隔期(d),此处取值 7 d; DT_{50} 为农药在植株表面的降解半衰期(d),采用默认值 10 d,计算得 $MAF = 1.995$ 。代入数据,最终计算得 $PER_m = 337$ g·hm⁻²。

(2) 赤眼蜂农田外暴露场景初级暴露分析

农田外预测暴露量 $PER_{off} = AR \times MAF \times PDF / VDF$, 式中: PER_{off} 为农田外预测暴露量 ($g \cdot hm^{-2}$); AR 为推荐的单位面积农药最高施药剂量 ($g \cdot hm^{-2}$), 数据值为 $169 g \cdot hm^{-2}$; MAF 为多次施药因子, 与农田内暴露场景一致, 数值为 1.995; PDF 为农药飘移因子, 取喷药距离作物边界 1 m 的数值, 即 2.01%; VDF 为农药植被分布因子, 采用默认值 5。代入数据, 最终计算得 $PER_{off} = 1.36 g \cdot hm^{-2}$ 。

2.3.2.2 赤眼蜂(非靶标节肢动物)初级效应分析

根据指南《农药登记 环境风险评估指南第 7 部分: 非靶标节肢动物》(NY/T 2882.7—2016)^[22], 选择 75% 戊唑·嘧菌酯可溶性粉剂对赤眼蜂的 24 h-LR₅₀ = 0.281 $g \cdot hm^{-2}$ 作为毒性终点。

2.3.2.3 赤眼蜂初级风险表征

在农田内场景下对非靶标节肢动物的初级风险用危害商值 $HQ_{in} = PER_{in} / LR_{50}$ 表征, 式中: PER_{in} 为农田内预测暴露量, 取值 337 $g \cdot hm^{-2}$; LR_{50} 为半致死用量, 取值 0.281 $g \cdot hm^{-2}$; 代入数据, 最终计算得 $HQ_{in} = 1199$, 根据指南《农药登记 环境风险评估指南第 7 部分: 非靶标节肢动物》(NY/T 2882.7—2016)^[22], 农田内风险不可接受 ($HQ_{in} > 5$)。

在农田外场景下对非靶标节肢动物的初级风险用危害商值 $HQ_{off} = PER_{off} \times UF / LR_{50}$ 表征, 式中: PER_{off} 为农田外预测暴露量, 取值 1.36 $g \cdot hm^{-2}$; LR_{50} 为半致死剂量, 取值 0.281 $g \cdot hm^{-2}$; UF 为不确定性因子, 默认值为 5。代入数据, 最终计算得 $HQ_{off} = 24.2$, 根据指南《农药登记 环境风险评估指南第 7 部分: 非靶标节肢动物》(NY/T 2882.7—2016)^[22], 农田外风险不可接受 ($HQ_{off} > 5$)。

2.4 乐果(参照物)对家蚕的急性毒性

用寇氏法计算得到参照物乐果对家蚕急性毒性 96 h-LD₅₀ 为 $2.65 \times 10^3 mg \cdot L^{-1}$ (95% 置信限为 $2.54 \times 10^3 \sim 2.78 \times 10^3 mg \cdot L^{-1}$)。试验开始至试验结束时, 对照组死亡率不超过 10%; 本试验条件下对家蚕 96 h 的急性毒性为“低毒” ($LC_{50} > 200 mg \cdot L^{-1}$), 符合《化学农药环境安全评价试验准则第 11 部分: 家蚕急性毒性试验》(GB/T 31270.11—2014)^[20] 试验有效性要求, 说明试验家蚕、条件和方法符合试验要求, 试验有效。

2.5 75% 戊唑·嘧菌酯可溶性粉剂对家蚕的急性毒性和初级风险评估

2.5.1 75% 戊唑·嘧菌酯可溶性粉剂对家蚕的急性毒性

用寇氏法计算得 75% 戊唑·嘧菌酯可溶性粉剂

对家蚕的 96 h-LC₅₀ 为 596 $mg \cdot L^{-1}$ 。根据《化学农药环境安全评价试验准则第 11 部分: 家蚕急性毒性试验》(GB/T 31270.11—2014)^[20] 中农药对家蚕的毒性等级划分标准, 75% 戊唑·嘧菌酯可溶性粉剂对家蚕 96 h 的急性毒性为“低毒级” ($LC_{50} > 200 mg \cdot L^{-1}$)。

2.5.2 75% 戊唑·嘧菌酯可溶性粉剂对家蚕的初级风险评估

2.5.2.1 家蚕初级暴露分析

在喷雾场景下家蚕可能暴露, 故对其进行风险评估。根据指南《农药登记 环境风险评估指南第 5 部分: 家蚕》(NY/T 2882.5—2016)^[23], 计算 3 次喷雾后最外围桑树上的预测暴露浓度 $PEC_{ma-fr} = AR \times PDF_{fr} \times RUD_{95} \times MAF \times DF_{PHI}$ (单位为 $mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶) 和次外围桑树上的预测暴露浓度 $PEC_{ma-sr} = AR \times PDF_{sr} \times RUD_{95} \times MAF \times DF_{PHI}$ (单位为 $mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶), 式中: AR 为单位面积农药喷雾量, 取值 0.169 $kg \cdot hm^{-2}$; PDF_{fr} 为最外围一行桑树的飘移因子, 采用默认值 9.8%; PDF_{sr} 为次外围一行桑树的飘移因子, 采用默认值 0.6%; RUD_{95} 为桑树上第 95 百分位的单位残留量, 采用默认值 950 ($mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶) $\cdot (kg \cdot hm^{-2})^{-1}$; MAF 为 3 次施药因子, 数值为 1.995; $DF_{PHI} = e^{-\ln 2 \times PHI / DT_{50}}$ 为桑叶上农药的降解系数, 其中, DT_{50} 为农药在桑叶上的降解半衰期(d), 采用默认值 10 d, PHI 为农药最后一次使用距离桑叶采收的间隔期(d), 采用默认值 1 d。代入数据, 计算得 $DF_{PHI} = 0.933$, $PEC_{ma-fr} = 29.3 mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶, $PEC_{ma-sr} = 1.79 mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶。

2.5.2.2 家蚕初级效应分析

根据指南《农药登记 环境风险评估指南第 5 部分: 家蚕》(NY/T 2882.5—2016)^[23], 采用家蚕的急性毒性(浸叶法) 96 h-LC₅₀ 为急性毒性终点。按照公式 $PNEC = EnP / UF$ 计算 $PNEC (mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶), 式中: EnP 为毒性试验终点 ($mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶); UF 为不确定性因子, 取值 70。 EnP 采用急性毒性试验的 $LC_{50} (mg \cdot L^{-1})$, 因单位不同, 需按公式 $LC_{50-C} = LC_{50} \times FC$ 修正, 式中: LC_{50-C} 为修正半致死浓度 ($mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶); LC_{50} 取值 596 $mg \cdot L^{-1}$; FC 为修正系数, 采用默认值 0.46 $L \cdot kg^{-1}$ 桑叶。代入数据, 最终计算得 $LC_{50-C} = 274 mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶, $PNEC = 3.92 mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶。

2.5.2.3 家蚕初级风险表征

对家蚕的风险以风险商值 $RQ = PEC / PNEC$ 表征, 式中: PEC 为预测暴露浓度, 取值 29.3 (最外围) $mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶和 1.79 (次外围) $mg \cdot kg^{-1}$ 桑叶; $PNEC$

为预测无效应浓度,取值 $3.92 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 桑叶。代入数据,最终计算得 $RQ = 7.47$ (最外围)和 0.457 (次外围)。根据指南《农药登记 环境风险评估指南第5部分:家蚕》(NY/T 2882.5—2016)^[23],最外围桑树风险不可接受($RQ > 1$),次外围桑树风险可接受($RQ \leq 1$)。

3 讨论 (Discussion)

作为农药管理的重要环节,农药进入市场前必须提供登记资料,包括行为、残留、毒理学和环境风险评估等资料。1997年,美国^[33]和欧盟^[34]在农药管理法规中就发布了农药的环境风险评估指南和准则,并且要求农药登记时提供环境风险评估报告,近年来农药的环境风险评估更加受到重视^[35-36]。在我国,2014年以来发布了农药风险评估的准则《化学农药环境安全评价试验准则》(GB/T 31270—2014)和指南《农药登记 环境风险评估指南》(NY/T 2882—2016),涉及的生物包括水生生物、鸟类、蜜蜂、家蚕、非靶标节肢动物和土壤生物等,要求用于评估的关键数据必须来自依据国标准则《化学农药环境安全评价试验准则》(GB/T 31270—2014)等开展的试验。本研究根据上述国标要求进行试验,获得了蜜蜂、赤眼蜂和家蚕的急性毒性数据,然后运用这些数据进行风险评估,其过程包括暴露风险分析、效应风险分析和风险表征。这种评估方法与欧美等国家一致,因而为中外数据互认奠定了基础。

在上述3种非靶标益虫的初级风险评估中,指南《农药登记 环境风险评估指南》(NY/T 2882—2016)规定采用 RQ (蜜蜂、家蚕)或 HQ (赤眼蜂)来表征风险,这比《化学农药环境安全评价试验准则》(GB/T 31270—2014)中规定的单一使用 LD_{50} (LC_{50} 或 LR_{50})来判定毒性和风险要科学合理。因为, RQ 或 HQ 与农药的 AR 成正比,与 LD_{50} (LC_{50} 或 LR_{50})成反比,也是就说 RQ 或 HQ 由2个因素决定。但是 LD_{50} (LC_{50} 或 LR_{50})是在实验室条件下测得的对成虫的毒性结果,并不能准确客观地反映田间实际施用农药对非靶标益虫的危害情况。因此,科学评价农药对非靶标益虫的安全性,还必须综合考虑农药的残留、行为、毒理和虫态虫龄等因素的影响。另外除了强调成虫的急性死亡终点指标,还需要关注慢性中毒对非靶标益虫造成的生理和生态行为等方面的影响,例如觅食、飞行和方向感等的改变,以及低浓度农药对非靶标益虫的亚致死效应和毒性累积

效应,从而做出系统全面而准确的风险判断。

杀菌剂戊唑醇通过抑制植物病原菌细胞膜成分麦角甾醇脱甲基活性而干扰真菌细胞膜的形成,产生杀菌作用,而动植物细胞膜不含有麦角甾醇,故戊唑醇对动植物的细胞膜无干扰作用,从这点来说可实现对真菌的选择性。但是动物内分泌系统中含有甾体激素,如睾酮、二氢睾酮和雌二醇等,戊唑醇影响甾体激素的代谢,故对动物具有内分泌干扰作用。例如,戊唑醇可造成非洲爪蟾血液中睾酮、二氢睾酮含量增加,而使雌二醇浓度降低^[37],非致死剂量的戊唑醇造成家蚕丝腺、蜕皮激素、全茧重、茧层重和茧层率显著下降,而使保幼激素水平增加,故戊唑醇可对家蚕产生慢性毒性^[38]。杀菌剂啉菌酯通过抑制线粒体呼吸而杀菌,细胞器线粒体在细菌、真菌和动植物细胞中普遍存在,故啉菌酯引起的毒性应该比较广泛。例如,啉菌酯对家蚕虽然是低毒性、低风险,但是对家蚕的发育历期、眠蚕体质量和繁殖力等均有影响,啉菌酯可对家蚕产生慢性毒性^[9]。啉菌酯可降低雌性斑马鱼的雌二醇、卵黄原蛋白含量和性腺指数,而增加睾酮含量,并造成卵巢和肝脏组织病理学改变,对斑马鱼有繁殖毒性^[39]和发育毒性^[40],亚致死浓度的啉菌酯可造成蜜蜂激素失调和代谢毒性^[41]。

欧洲食品安全局的环境风险评估报告表明,戊唑醇^[42]和啉菌酯^[43]对意大利蜜蜂和对非靶标节肢动物的典型代表蚜茧蜂(*Aphidius rhopalosiph*)和捕食螨(*Typhlodromus pyri*)均为低风险。我国的研究报道戊唑醇单剂对家蚕低毒^[44]或低风险^[45],啉菌酯单剂对家蚕低毒、中等风险^[44]或低毒性、低风险^[46]。本研究结果表明,戊唑醇和啉菌酯复配后对意大利蜜蜂低风险,对玉米螟赤眼蜂高风险或风险不可接受,对家蚕的最外围桑树食物源的风险不可接受。与2种单剂毒性相比,复配剂对蜜蜂是低风险,风险没有变化,可能原因是蜜蜂暴露时间短,只有48 h,同时蜜蜂虽然是人工养殖,但是蜜蜂自行外出采蜜,与自然环境接触多,对环境的适应性强,所以抗性强,而戊唑醇和啉菌酯主要造成慢性毒性,可能48 h内未能表现毒性症状。另外,与其他昆虫相比,蜜蜂基因组中缺乏解毒酶基因,这使得蜜蜂更容易受到农药的危害^[47],这种危害短期内在成虫态未能体现,从长期来看可能体现在成虫以外的生活史中,可能造成蜂群衰竭失调,所以延长暴露试验时间可能观察到发生在非成虫态上的慢性毒性。与单剂相比,复配

剂对玉米螟赤眼蜂的风险增加且不可接受,可能因为戊唑醇和啉菌酯产生增效作用,也不能排除助剂的影响,需要进一步试验证实。与单剂相比,复配剂对家蚕风险与暴露量有关,暴露量越大则风险越大至不可接受,可能是剂量效应在起作用,暗示2个低毒性的农药复配后对非靶标生物也可能是高风险,这依赖用药量和其是否具有慢性毒性等特性,也从另一个侧面说明农药的减量使用可降低农药对非靶标生物的风险。

综上所述,2个低毒且具有慢性毒性的农药复配后对非靶标益虫可能存在风险,所以针对这种情况,应该在现行的风险评估方法中,增加慢性毒性等参数以改进现有的风险评估方法。

致谢:感谢美国夏威夷大学植保学院终生教授胡晋生博士在英文摘要修改中给予的帮助。

通讯作者简介:柳新菊(1972—),女,学士,副研究员,主要研究方向为农药应用及环境安全性评价。

参考文献(References):

- [1] 张宝兰,陈翠群,张宏涛,等.阿维菌素对意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.)的毒性影响[J].生态毒理学报,2017,12(4): 174-182
Zhang B L, Chen C Q, Zhang H T, et al. The toxicity effects of abamectin on honeybees (*Apis mellifera* L.) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(4): 174-182 (in Chinese)
- [2] 谭丽超,卜元卿,程燕,等.吡虫啉对蜜蜂幼虫的室内毒性研究[J].生态毒理学报,2016,11(4): 253-257
Tan L C, Bu Y Q, Cheng Y, et al. Indoor toxicity research of imidacloprid on honeybee larvae [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(4): 253-257 (in Chinese)
- [3] 谭丽超,程燕,卜元卿,等.新烟碱类农药在我国的登记现状及对蜜蜂的初级风险评估[J].生态毒理学报,2019,14(6): 292-303
Tan L C, Cheng Y, Bu Y Q, et al. Registration status review and primary risk assessment to bees of neonicotinoid pesticides [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(6): 292-303 (in Chinese)
- [4] 刘潇.新烟碱类杀虫剂对三种赤眼蜂毒性效应研究及风险评估[D].泰安:山东农业大学,2019: 3
Liu X. Study on the risk assessment of neonicotinoid insecticides on three species of *Trichogramma* [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2019: 3 (in Chinese)
- [5] 徐华强,薛明,赵海朋,等.阿维菌素等药剂及其混配制剂对赤眼蜂的安全性评价[J].中国生物防治学报,2014,30(3): 311-315
Xu H Q, Xue M, Zhao H P, et al. Safety evaluation of abamectin and its mixtures on *Trichogramma* spp. [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2014, 30(3): 311-315 (in Chinese)
- [6] 祝小祥,苍涛,王彦华,等.三唑类杀菌剂对三种赤眼蜂成蜂的急性毒性及风险评估[J].昆虫学报,2014,57(6): 688-695
Zhu X X, Cang T, Wang Y H, et al. Acute toxicity and risk assessment of triazole fungicides to adult wasps of three *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2014, 57(6): 688-695 (in Chinese)
- [7] 吕铭潇,张骞.10种生物源药剂对家蚕的毒性测定及中毒反应观察[J].生物灾害科学,2015,38(4): 366-370
Lv M X, Zhang Q. Toxicity of ten biological source pesticides to silkworm *Bombyx mori* L [J]. Biological Disaster Science, 2015, 38(4): 366-370 (in Chinese)
- [8] 孙新友,袁善奎,林荣华,等.91种农药制剂对家蚕的急性毒性研究[J].农药科学与管理,2011,32(8): 21-25
Sun X Y, Yuan S K, Lin R H, et al. Acute toxicity evaluation of ninety-one pesticides to silkworm [J]. Pesticide Science and Administration, 2011, 32(8): 21-25 (in Chinese)
- [9] 莫秀芳,李星翰,王晓岚,等.苯醚甲环唑和啉菌酯对家蚕的生长发育毒性[J].农药学报,2018,20(6): 758-764
Mo X F, Li X H, Wang X L, et al. Toxicity of difenoconazole and azoxystrobin on the growth and development of *Bombyx mori* [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2018, 20(6): 758-764 (in Chinese)
- [10] 苍涛,王彦华,吴长兴,等.新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性及风险评估[J].生态毒理学报,2017,12(4): 285-292
Cang T, Wang Y H, Wu C X, et al. Acute toxicity and risk assessment of neonicotinoid insecticides to honeybees (*Apis mellifera* L.) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(4): 285-292 (in Chinese)
- [11] Farooqui T. A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: A unique hypothesis [J]. Neurochemistry International, 2013, 62(1): 122-136
- [12] 王子辰,田俊策,王国荣,等.稻田非鳞翅目害虫靶标农药对稻螟赤眼蜂的安全性评价[J].中国生物防治学报,2016,32(1): 19-24
Wang Z C, Tian J C, Wang G R, et al. Safety assessment

- of pesticides targeted at non-lepidopteran rice pests to *Trichogramma japonicum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2016, 32 (1): 19-24 (in Chinese)
- [13] 俞瑞鲜, 王彦华, 吴长兴, 等. 丁烯氟虫腈对家蚕(*Bombyx mori*)的急性毒性与风险评估[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(6): 639-645
Yu R X, Wang Y H, Wu C X, et al. Acute toxicity and risk assessment of butene-fipronil to silkworm, *Bombyx mori* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7(6): 639-645 (in Chinese)
- [14] Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). No.213, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test [S]. Paris: OECD, 1998
- [15] Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). No.214, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test [S]. Paris: OECD, 1998
- [16] European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). Environmental Risk Assessment Scheme for Plant Protection Products [J]. EPPO Bulletin, 2010, 40(3): 321-322
- [17] European Food Safety Authority (EFSA). Guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees) [J]. EFSA Journal, 2013, 11(7): 3295
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 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: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2014
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides—Part 10: Honeybee acute toxicity test: GB/T 31270.10—2014 [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China, 2014 (in Chinese)
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 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17部分: 天敌赤眼蜂急性毒性试验: GB/T 31270.17—2014[S]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2014
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides—Part 17: *Trichogramma* acute toxicity test: GB/T 31270.17—2014 [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China, 2014 (in Chinese)
- [20] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 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11部分: 家蚕急性毒性试验: GB/T 31270.11—2014[S]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会, 2014
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides—Part 11: Silkworm acute toxicity test: GB/T 31270.11—2014 [S]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China, 2014 (in Chinese)
- [21] 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
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Guidance on environmental risk assessment for pesticide registration—Part 4: Honeybee: NY/T 2882.4—2016 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2016 (in Chinese)
- [22] 中华人民共和国农业部. 农药登记 环境风险评估指南 第7部分: 非靶节肢动物: NY/T 2882.7—2016[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Guidance on environmental risk assessment for pesticide registration—Part 7: Non-target arthropod: NY/T 2882.7—2016 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2016 (in Chinese)
- [23] 中华人民共和国农业部. 农药登记 环境风险评估指南 第5部分: 家蚕: NY/T 2882.5—2016 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2016
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Guidance on environmental risk assessment for pesticide registration—Part 5: Silkworm: NY/T 2882.5—2016 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2016 (in Chinese)
- [24] 安颢敏, 贾变桃, 李志伟, 等. 12种杀菌剂制剂对半闭弯尾姬蜂的急性毒性及安全性评价[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(4): 242-248

- An H M, Jia B T, Li Z W, et al. Acute toxicity and safety evaluation of 12 fungicide formulations to *Diadegma semiclausum* (Hymenoptera: Ichneumonidae) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(4): 242-248 (in Chinese)
- [25] Akallal R, Debieu D, Lanen C, et al. Inheritance and mechanisms of resistance to tebuconazole, a sterol C14-demethylation inhibitor, in *Nectria haematococca* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 1998, 60(3): 147-166
- [26] 崔蕊蕊, 刘钰, 庄占兴, 等. 戊唑醇的开发现状 & 前景展望[J]. 山东化工, 2017, 46(4): 48-50, 54
- Cui R R, Liu Y, Zhuang Z X, et al. Development status and prospect of tebuconazole [J]. Shandong Chemical Industry, 2017, 46(4): 48-50, 54 (in Chinese)
- [27] 夏晓明, 胡燕, 王开运, 等. 抗戊唑醇禾谷丝核菌菌株对不同碳氮营养源的利用[J]. 植物保护学报, 2006, 33(2): 207-211
- Xia X M, Hu Y, Wang K Y, et al. Utilization of different carbon and nitrogen nutrition sources to tebuconazole-resistant strains of *Rhizoctonia cerealis* [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2006, 33(2): 207-211 (in Chinese)
- [28] Lichtemberg P S F, Michailides T J, Puckett R D, et al. Fitness costs associated with G461S mutants of *Monilinia fructicola* could favor the management of tebuconazole resistance in Brazil [J]. Tropical Plant Pathology, 2019, 44(2): 140-150
- [29] 中国农药信息网[EB/OL]. <http://www.chinapesticide.org.cn/>
- [30] 张一宾. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的全球市场概况 & 进展[J]. 世界农药, 2016, 38(4): 30-34
- Zhang Y B. Development and global market of strobilurin fungicides [J]. World Pesticides, 2016, 38(4): 30-34 (in Chinese)
- [31] 何秀玲, 张一宾. 甲氧基丙烯酸酯类和酰胺类杀菌剂品种市场和抗性发展情况[J]. 世界农药, 2013, 35(3): 14-19
- He X L, Zhang Y B. Market and resistance of strobilurin and carboxamide fungicides [J]. World Pesticides, 2013, 35(3): 14-19 (in Chinese)
- [32] Tuner J A. The e-Pesticide Manual [M]. 6th edition. Cambridge: British Crop Production Council (BCPC): 819
- [33] United States Environmental Protection Agency (US EPA). Guidelines for Ecological Risk Assessment [R]. Washington DC: US EPA, 1998
- [34] European Commission. Council Directive 97/57/EC of 22 September 1997 establishing Annex VI to Directive 91/414/EEC [R]. Brussel: European Commission, 1997
- [35] 于彩虹, 李春燕, 林荣华, 等. 农药对陆生生物的生态毒性及风险评估[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(6): 21-28
- Yu C H, Li C Y, Lin R H, et al. Eco-toxicity and risk assessment of pesticide on terrestrial organisms [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(6): 21-28 (in Chinese)
- [36] 谭丽超, 程燕, 周军英, 等. 农药对陆生生物的生态风险评估研究进展[J]. 农药, 2020, 59(5): 322-327
- Tan L C, Cheng Y, Zhou J Y, et al. Research progress of terrestrial ecological risk assessment for pesticides [J]. Agrochemicals, 2020, 59(5): 322-327 (in Chinese)
- [37] Poulsen R, Luong X, Hansen M, et al. Tebuconazole disrupts steroidogenesis in *Xenopus laevis* [J]. Aquatic Toxicology, 2015, 168: 28-37
- [38] Li S Y, Jiang H B, Qiao K, et al. Insights into the effect on silkworm (*Bombyx mori*) cocooning and its potential mechanisms following non-lethal dose tebuconazole exposure [J]. Chemosphere, 2019, 234: 338-345
- [39] Cao F J, Zhu L Z, Li H, et al. Reproductive toxicity of azoxystrobin to adult zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Environmental Pollution, 2016, 219: 1109-1121
- [40] Kumar N, Willis A, Satbhai K, et al. Developmental toxicity in embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*) exposed to strobilurin fungicides (azoxystrobin and pyraclostrobin) [J]. Chemosphere, 2020, 241: 124980
- [41] 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
- [42] European Food Safety Authority (EFSA). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tebuconazole [J]. EFSA Journal, 2014, 12(1): 3485
- [43] European Food Safety Authority (EFSA). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azoxystrobin [J]. EFSA Journal, 2010, 8(4): 1542
- [44] 俞瑞鲜, 王彦华, 吴声敢, 等. 21 种杀菌剂对家蚕的急性毒性与风险评价[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(6): 643-648
- Yu R X, Wang Y H, Wu S G, et al. Acute toxicity and risk assessment of 21 fungicides to the larvae of *Bombyx mori* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(6): 643-648 (in Chinese)
- [45] 于彩虹, 隋婧怡, 张燕, 等. 13 种农药对家蚕的急性毒性[J]. 农药, 2017, 56(5): 344-347

- Yu C H, Sui J Y, Zhang Y, et al. Acute toxicity evaluation of thirteen pesticides on silkworm [J]. *Agrochemicals*, 2017, 56(5): 344-347 (in Chinese)
- [46] 江秀均, 谢道燕, 柴建萍, 等. 9种杀菌剂对家蚕的急性毒性及风险性评价[J]. *西南农业学报*, 2016, 29(10): 2501-2504
- Jiang X J, Xie D Y, Chai J P, et al. Acute toxicity and risk assessment of 9 fungicides to larvae of *Bombyx mori* [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 29(10): 2501-2504 (in Chinese)
- [47] Claudianos C, Ranson H, Johnson R M, et al. A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee [J]. *Insect Molecular Biology*, 2006, 15(5): 615-636 ◆