

吴若函,丁悦,严海娟,等.新烟碱类杀虫剂对几种环境生物的安全性评价[J].江苏农业科学,2016,44(1):295-297.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.01.087

新烟碱类杀虫剂对几种环境生物的安全性评价

吴若函,丁悦,严海娟,辛星,郭晓瑜,余向阳,宋雯

(江苏省食品质量安全重点实验室/省部共建国家重点实验室培育基地/农业部农产品质量安全控制技术与标准重点实验室,江苏南京 210014)

摘要:为明确新烟碱类杀虫剂对多种环境生物的安全性,测定了吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对 6 种非靶标生物(日本鹌鹑、意大利工蜂、家蚕、斑马鱼、大型蚤、赤子爱胜蚓)的急性毒性。结果表明,吡虫啉对日本鹌鹑的急性经口毒性为高毒,噻虫嗪为中毒,烯啶虫胺、呋虫胺为低毒;吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对蜜蜂的急性接触毒性均为高毒;吡虫啉、噻虫嗪对家蚕的急性毒性为剧毒,烯啶虫胺、呋虫胺为高毒;吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对斑马鱼和大型蚤的毒性均为低毒;吡虫啉、烯啶虫胺、呋虫胺对蚯蚓的急性毒性均为中毒,噻虫嗪为低毒。

关键词:新烟碱类;非靶标生物;毒性

中图分类号: TQ450.2⁺6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)01-0295-03

新烟碱类杀虫剂是近些年来发展非常迅速的杀虫剂。该类杀虫剂具有独特的杀虫机制,与常规的杀虫剂没有交互抗性,具有良好的根部内吸性、胃毒和触杀作用^[1]。新烟碱类杀虫剂的杀虫谱比较广,对同翅目、鞘翅目、缨翅目、半翅目、双翅目、鳞翅目、线虫、螨虫等均具有较好的效果,且具有较长的持效性。同时,新烟碱类化合物对昆虫的乙酰胆碱有较高的选择性^[2],而且对哺乳动物毒性较低。因此,新烟碱类杀虫剂作为一类高效、安全、高选择性的新型杀虫剂,已经成为全球市场占有率最大的一类植物源杀虫剂。鸟类、蜜蜂、蚕、鱼类等是非常重要的环境生物,农药对它们的毒性大小在一定程度上反映了该农药的环境安全性。作为生物源农药,新烟碱类杀虫剂通常被认为对非靶标生物安全,但是已有研究表明新烟碱类农药对蜜蜂、家蚕不安全^[3-5]。有证据显示,新烟碱类农药对蜜蜂等授粉昆虫生存造成威胁,并导致蜜蜂种群数量和聚居地的减少^[3]。随着欧盟在 2013 年 5 月对 3 种新烟碱类种子处理农药采取限制使用的措施^[6],新烟碱类杀虫剂的生态安全问题得到了越来越多的重视。开展农药对环境生物的生态安全性评价,指导科学合理地使用化学农药,避免或者减轻农药对环境生物产生不良影响很有必要。根据《化学农药环境安全评价试验准则》^[7],本研究测定了 4 种新烟碱类杀虫剂——吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对 6 种非靶标生物(日本鹌鹑、意大利工蜂、家蚕、斑马鱼、大型蚤、赤子爱胜蚓)的急性毒性,并进行了安全性评价,以期为新烟碱类杀虫剂对环境生物的影响提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 供试生物

日本鹌鹑(*Coturnix coturnix japonica*),由南京金国家禽养殖场提供。饲养至约 30 d,选择体质量(100±10)g、健康、活

泼、雌雄各半的鹌鹑用于试验。

意大利蜜蜂(*Apis mellifera* L.),成年工蜂,由南京市金蜂蜜蜂种王养殖场提供。试验时选择健康、大小一致的工蜂。

家蚕(*Bombyx mori*),蚕种为菁松×皓月,由中国农业科学院镇江蚕业研究所提供。在温度 25℃、湿度 80% 条件下,放置 9~10 d 孵化,饲养至二龄起,选择大小一致的家蚕用于试验。

斑马鱼(*Brachydonio rerio*),由南京市明海养殖场提供。斑马鱼在 23~25℃ 下预养 7 d 以上,预养期间斑马鱼死亡率应≤5%,选择体长(2.0±1.0)cm、健康无病的斑马鱼用于试验。

大型蚤(*Daphnia magna*),由环境保护部南京环境科学研究所提供,在笔者所在实验室饲养。保持良好的培养条件,以小球藻和斜生栅藻的混合液饲喂,使大型蚤的繁殖处于孤雌生殖状态。选用实验室条件下培养 3 代以上、出生 6~24 h、健康、活泼的幼蚤用于试验。

赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*),由笔者所在实验室饲养提供。选择体质量 0.3~0.6 g、充满活力的蚯蚓用于试验。

1.2 供试药剂

350 g/L 吡虫啉悬浮剂(安徽东盛制药有限公司);60% 烯啶虫胺可湿性粉剂(江苏丰山集团有限公司);25% 噻虫嗪水分散粒剂(江苏宝灵化工股份有限公司);20% 呋虫胺悬浮剂(江苏华农生物化学有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 鸟类急性经口毒性试验 采用经口一次灌注法,按 100 g 体质量给药 1.0 mL,每羽称质量,分别给药。设置 5~6 个剂量组,并设空白对照组,每组 10 羽雌雄各半的健康活泼鹌鹑。供试鹌鹑给药后,按常规方法饲养。处理后,观察并记录鹌鹑饲养 7 d 内的死亡情况,应用 DPS 7.05(浙江大学)分析和计算饲养 7 d 的 LD₅₀(半数致死剂量)及其 95% 置信限。

1.3.2 蜜蜂急性接触毒性试验 供试农药用丙酮溶解,配制不同浓度的药液;供试蜜蜂冷冻麻醉。对准蜜蜂中胸背板处,用微量点滴仪分别点滴 5~6 个浓度组的供试药液 1 μL,待药液晾干后转入试验笼中,用脱脂棉浸泡适量的蔗糖溶液饲喂。试验组和对照组均设 3 个平行,每个平行 10 头蜜蜂。处理后,观察并记录蜜蜂在 48 h 内的死亡情况,应用 DPS

收稿日期:2015-01-09

基金项目:江苏省自然科学基金青年基金(编号: BK20140746)。

作者简介:吴若函(1987—),女,江苏南京人,硕士,助理研究员,从事生态毒理学研究。E-mail: wuruoan0420@163.com。

7.05(浙江大学)分析和计算 48 h 的 LD₅₀及其 95%置信限。

1.3.3 家蚕急性毒性试验 采用食下毒叶法,用不同浓度的药液完全浸渍桑叶 10 s,晾干后供家蚕食用,整个试验期内饲喂处理桑叶。试验组 and 对照组均设 3 个平行,每个平行 20 头蚕。处理后,观察并记录家蚕在 96 h 内的死亡情况,应用 DPS 7.05(浙江大学)计算 96 h 的 LC₅₀及其 95%置信限。

1.3.4 鱼类急性毒性试验 采用半静态法,每 24 h 更换药液。试验时,将预养后的斑马鱼放入试验缸内,每缸 10 尾,试验组和空白对照组各设 2 个平行。试验用水溶解氧值不低于 7.0 mg/L,pH 值在 7.0~8.0 之间。处理后,观察并记录斑马鱼在 96 h 内的死亡情况,应用 DPS 7.05(浙江大学)分析和计算 96 h 的 LC₅₀(半数致死浓度)及其 95%置信限。

1.3.5 溞类急性活动抑制试验 试验时,在烧杯中装入不同浓度的药液,将幼溞放入烧杯内,每烧杯 5 头,试验组和空白对照组各设 4 个平行。试验用水溶解氧值不低于 7.0 mg/L,pH 值在 7.0~8.0 之间。处理后,观察并记录大型溞在 48 h 内的受抑制情况,应用 DPS 7.05(浙江大学)分析和计算 48 h 的 EC₅₀(半数抑制浓度)及其 95%置信限。

1.3.6 蚯蚓急性毒性试验 将供试农药配制成 5~6 个浓度梯度,拌入 500 g 土壤,搅拌均匀,分别置于标本瓶内,每个标本瓶接入 10 条蚯蚓,调节土壤含水量至 30%,放入人工气候箱中。于第 14 天倒出瓶内土壤,观察记录蚯蚓的死亡数,应用 DPS 7.05(浙江大学)分析和计算 14 d 的 LC₅₀及其 95%置信限。

2 结果与分析

吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对日本鹌鹑 7 d 急性经口的 LD₅₀值分别为 38.1、546.0、243.0 和 >1 000.0 a. i. mg/kg,试验结果见表 1。我国将农药对鸟类急性经口毒性划分为 4 个等级:LD₅₀(7 d)≤10 a. i. mg/kg 为剧毒;10 < LD₅₀(7 d)≤

50 a. i. mg/kg 为高毒;50 < LD₅₀(7 d)≤ 500 a. i. mg/kg 为中毒;LD₅₀(7 d) >500 a. i. mg/kg 为低毒。因此,吡虫啉对日本鹌鹑的急性经口毒性为高毒,噻虫嗪对日本鹌鹑的急性经口毒性为中毒,烯啶虫胺、呋虫胺对日本鹌鹑的急性经口毒性为低毒。

表 1 几种新烟碱类杀虫剂对日本鹌鹑的急性经口毒性试验结果

药名	毒性回归方程	LD ₅₀ (a. i. mg/kg)	LD ₅₀ 的 95% 置信限 (a. i. mg/kg)
吡虫啉	$y = -2.63 + 4.83x$	38.1	27.8~46.4
烯啶虫胺	$y = -8.94 + 5.10x$	546.0	428~658
噻虫嗪	$y = -4.69 + 4.06x$	243.0	181~364
呋虫胺		>1 000.0	—

注:毒性回归方程中 y 为死亡率对应的概率值,x 为对数剂量。下表同。

吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪和呋虫胺对蜜蜂 48 h 急性接触的 LD₅₀值分别为 0.097 0、0.003 68、0.011 6、0.143 0 a. i. μg/头,试验结果见表 2。我国将农药对蜜蜂急性接触毒性划分为 4 个等级:LD₅₀(48 h)≤0.001 a. i. μg/头的为剧毒;0.001 < LD₅₀(48 h)≤2.0 a. i. μg/头的为高毒;2.0 < LD₅₀(48 h)≤11.0 a. i. μg/头的为中毒;LD₅₀(48 h) >11.0 a. i. μg/头的为低毒。因此,吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对蜜蜂的急性接触毒性均为高毒。

吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对家蚕 96 h 的 LC₅₀值分别为 0.371 0、0.830 0、0.048 8、1.190 0 a. i. mg/L,试验结果见表 3。我国将农药对家蚕急性毒性划分为 4 个等级:LC₅₀(二龄)≤0.5 a. i. mg/L 的为剧毒;0.5 < LC₅₀(二龄)≤20 a. i. mg/L 的为高毒;20 < LC₅₀(二龄)≤200 a. i. mg/L 的为中毒;LC₅₀(二龄) > 200 a. i. mg/L 的为低毒。因此,吡虫啉、噻虫嗪对家蚕的急性毒性为剧毒,烯啶虫胺、呋虫胺对家蚕的急性毒性为高毒。

表 2 几种新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性接触毒性试验结果

药名	毒性回归方程	LD ₅₀ (a. i. μg/头)	LD ₅₀ 的 95% 置信限(a. i. μg/头)
吡虫啉	$y = 9.15 + 4.10x$	0.097 0	0.084 8~0.113 0
烯啶虫胺	$y = 9.19 + 1.72x$	0.003 68	$2.67 \times 10^{-3} \sim 4.99 \times 10^{-3}$
噻虫嗪	$y = 7.93 + 3.13x$	0.011 6	$9.16 \times 10^{-3} \sim 1.44 \times 10^{-2}$
呋虫胺	$y = 6.81 + 2.14x$	0.143 0	0.110~0.204

表 3 几种新烟碱类杀虫剂对家蚕的急性毒性试验结果

药名	毒性回归方程	LC ₅₀ (a. i. mg/L)	LC ₅₀ 的 95% 置信限 (a. i. mg/L)
吡虫啉	$y = 6.83 + 4.25x$	0.371 0	0.336~0.414
烯啶虫胺	$y = 5.46 + 5.67x$	0.830 0	0.762~0.899
噻虫嗪	$y = 8.53 + 2.69x$	0.048 8	0.041 8~0.056 7
呋虫胺	$y = 4.87 + 1.68x$	1.190 0	0.940~1.48

吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪和呋虫胺对斑马鱼 96 h 的 LC₅₀值分别为 >100.0、62.8、25.3、59.7 a. i. mg/L,试验结果见表 4。我国将农药对鱼类急性毒性划分为 4 个等级:LC₅₀(96 h)≤0.1 a. i. mg/L 为剧毒;0.1 < LC₅₀(96 h)≤1.0 a. i. mg/L 为高毒;1.0 < LC₅₀(96 h)≤10 a. i. mg/L 为中毒;LC₅₀(96 h) >10.0 a. i. mg/L 的为低毒。吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对斑马鱼的急性毒性均为低毒。

吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪和呋虫胺对大型溞 48 h 的 EC₅₀值分别为 11.1、19.5、13.4、45.7 a. i. mg/L,试验结果见

表 4 几种新烟碱类杀虫剂对斑马鱼的急性毒性试验结果

药名	毒性回归方程	LC ₅₀ (a. i. mg/L)	LC ₅₀ 的 95% 置信限 (a. i. mg/L)
吡虫啉		>100.0	
烯啶虫胺	$y = -158 + 90.6x$	62.8	62.3~63.5
噻虫嗪	$y = -2.39 + 5.26x$	25.3	22.0~29.0
呋虫胺	$y = -37.9 + 24.2x$	59.7	57.6~61.6

表 5。我国将农药对溞类毒性划分为 4 个等级:EC₅₀(48 h)≤0.1 a. i. mg/L 为剧毒;0.1 < EC₅₀(48 h)≤1.0 a. i. mg/L 为高毒;1.0 < EC₅₀(48 h)≤10 a. i. mg/L 为中毒;EC₅₀(48 h) >10.0 a. i. mg/L 的为低毒。吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对大型溞的急性毒性均为低毒。

吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪和呋虫胺对赤子爱胜蚓 14 d 的 LC₅₀值分别为 3.79、8.24、>100.00、3.28 a. i. mg/kg 干质量,试验结果见表 6。我国将农药对蚯蚓的急性毒性分为 4 个等级:LC₅₀(14 d)≤0.1 a. i. mg/kg 干质量为剧毒;0.1 <

表 5 几种新烟碱类杀虫剂对大型蚤的急性活动抑制试验结果

药名	毒性回归方程	EC ₅₀ (a. i. mg/L)	EC ₅₀ 的 95% 置信限 (a. i. mg/L)
吡虫啉	$y = 1.75 + 3.10x$	11.1	8.53 ~ 14.2
烯啶虫胺	$y = 0.809 + 3.25x$	19.5	14.6 ~ 24.6
噻虫嗪	$y = 1.45 + 3.15x$	13.4	10.5 ~ 17.3
呋虫胺	$y = -31.2 + 21.8x$	45.7	44.1 ~ 47.3

LC₅₀ (14 d) ≤ 1.0 a. i. mg/kg 干质量为高毒; 1.0 < LC₅₀ (14 d) ≤ 10 a. i. mg/kg 干质量为中毒, LC₅₀ (14 d) > 10 a. i. mg/kg 干质量为低毒。因此, 吡虫啉、烯啶虫胺、呋虫胺对蚯蚓的急性毒性均为中毒, 噻虫嗪对蚯蚓的急性毒性为低毒。

表 6 几种新烟碱类杀虫剂对赤子爱胜蚓的急性毒性试验结果

药名	毒性回归方程	LC ₅₀ (a. i. mg/kg 干质量)	LC ₅₀ 的 95% 置信限 (a. i. mg/kg 干质量)
吡虫啉	$y = 3.68 + 2.27x$	3.79	2.90 ~ 5.64
烯啶虫胺	$y = -9.18 + 15.5x$	8.24	7.95 ~ 8.54
噻虫嗪		> 100.00	
呋虫胺	$y = 3.30 + 3.29x$	3.28	2.62 ~ 4.62

3 结论与讨论

新烟碱类杀虫剂对水生生物的毒性较低, 吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪和呋虫胺对斑马鱼和大型蚤的毒性均为低毒。若按规定的剂量在田间使用这几种农药, 不会对鱼类、溞类造成危害性的影响。

新烟碱类杀虫剂对蚯蚓表现出一定程度的急性毒性。吡虫啉、烯啶虫胺、呋虫胺对蚯蚓的急性毒性均为中毒, 噻虫嗪为低毒。噻虫嗪与其他新烟碱类农药对蚯蚓的急性毒性差异很大, 其原因有待进一步研究。新烟碱类杀虫剂对鹌鹑也表现出了一定程度的急性毒性。吡虫啉对日本鹌鹑的急性经口毒性为高毒, 噻虫嗪为中毒, 烯啶虫胺、呋虫胺为低毒。各个新烟碱类农药对鹌鹑的急性毒性表现出了较大的差异性。

新烟碱类杀虫剂对蜜蜂、家蚕均有较高的急性毒性。吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺对蜜蜂的急性接触毒性均为高毒, 吡虫啉、噻虫嗪对家蚕的急性毒性为剧毒, 烯啶虫胺、呋虫胺对家蚕的急性毒性为高毒。由于新烟碱类杀虫剂对害虫具有触杀、胃毒、内吸等多重作用, 它们对蜜蜂、家蚕等非靶标昆虫也具有相似的毒害作用, 使得蜜蜂、家蚕的生存环境面临着巨大的威胁。吡虫啉、烯啶虫胺、噻虫嗪、呋虫胺都应严禁在蜜源植物开花授粉期施用。在桑园周边农田中防治其他作物害虫时, 应根据天气状况适时适量施药, 减少农药随空气扩散的影响; 在蚕期采用其他低毒性的农药防治桑园害虫。

总体来说, 新烟碱类杀虫剂对水生生物毒性较低, 对鹌鹑、蚯蚓表现出一定的毒性, 对蜜蜂、家蚕等昆虫类的非靶标生物毒性较强。此外, 在这 4 种新烟碱类杀虫剂中, 吡虫啉对鹌鹑、蜜蜂、家蚕、蚯蚓等非靶标生物均表现出较高的毒性, 今后在施用过程中, 可考虑使用其他新烟碱类农药代替, 或者选择毒性较低的剂型。

新烟碱类杀虫剂的作用机制主要是通过激动乙酰胆碱受体来进行的。昆虫的乙酰胆碱受体广泛分布于中央神经系统中, 它不仅能够刺激神经传递信号, 还是杀虫剂作用于昆虫上的一个重要靶标^[8-9]。新烟碱类杀虫剂能够模拟乙酰胆碱的作用方式, 竞争性地结合乙酰胆碱的结合位点, 从而抑制乙酰

胆碱与乙酰胆碱受体的结合, 并且新烟碱类杀虫剂能够不停地刺激乙酰胆碱受体, 使得神经冲动持续传输, 破坏神经系统信号的正常传输, 起到杀虫的作用^[10]。

新烟碱类杀虫剂的安全性和有效性归因于它们对昆虫的乙酰胆碱的高选择性, 以及能够快速渗透到昆虫的中枢神经系统中, 但最重要的是目标位点相互作用的差异^[2]。新烟碱类杀虫剂是烟碱型乙酰胆碱受体 (nAChR) 的激动剂。脊椎动物 nAChRs 有 17 种亚单位, 亚单位的类型和组合形式变化非常大^[11]。由于昆虫、鱼类、鸟类、环节动物等在 nAChRs 的亚型表达上有一定差异, 结合位点发生变化, 这些微小的结构改变造成新烟碱类杀虫剂作用时的亚型选择性。因此, 新烟碱类农药对不同种类脊椎动物的毒性有较大差异, 对昆虫具有较高的选择性。此外, 不同新烟碱类化合物的微小构型变化也会影响该类化合物对 nAChRs 亚型的选择性。这也可以解释不同的新烟碱类化合物对同一种生物的毒性往往表现出一定差异, 如噻虫嗪对蚯蚓的急性毒性为低毒, 而吡虫啉、烯啶虫胺和呋虫胺均为中毒。

有研究表明, 褐飞虱对吡虫啉已产生了极高水平抗性^[12]。随着新烟碱类农药的大规模使用, 非靶标生物的安全将面临着更加严峻的考验, 如何科学地用药、使用合适的农药剂型与施用量将是今后农药安全管控的一个重要关注点。此外, 本试验仅研究了单一新烟碱类农药对几种环境生物的急性毒性效应, 由于实际环境中复合污染较为普遍, 新烟碱类农药与其他农药对环境生物的联合作用还有待进一步研究。

参考文献:

[1] 张梅凤, 范金勇, 张宏伟, 等. 新烟碱类杀虫剂的研究进展[J]. 世界农药, 2009, 31(1): 22-25, 52.

[2] Jeschke P, Nauen R. Neonicotinoids - from zero to hero in insecticide chemistry[J]. Pest Management Science, 2008, 64(11): 1084-1098.

[3] Fairbrother A, Purdy J, Anderson T, et al. Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2014, 33(4): 719-731.

[4] 崔新倩, 张 骞, 姜 辉, 等. 新烟碱类杀虫剂对家蚕的急性毒性评价与中毒症状观察[J]. 蚕业科学, 2012, 38(2): 288-291.

[5] 赵启楠, 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, 2014, 53(3): 206-209.

[6] Tunnicliffe H. A rather fuzzy problem[J]. The Chemical Engineer, 2013(6): 24-25.

[7] 国家环境保护局. 化学农药环境安全评价试验准则[J]. 农药科学与管理, 1990(4): 6-9.

[8] 邓天福, 高扬帆, 陈锡岭. 新烟碱类杀虫剂的选择毒性机理[J]. 河南科技学院学报: 自然科学版, 2010, 38(4): 23-26.

[9] Tomizawa M, Casida J E. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors[J]. Annual Review of Entomology, 2003, 48(1): 339-364.

[10] 王圣印, 刘永杰, 周仙红, 等. 新烟碱类杀虫剂吡虫啉的研究进展[J]. 江西农业学报, 2012, 24(3): 76-79.

[11] 王秋雨, 金莉莉, Li Z W. 烟碱型乙酰胆碱受体及其亚单位的结构功能[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(3): 221-226.

[12] 张莉丽, 汪彦欣, 岑铭松, 等. 褐飞虱对常用药剂的抗药性监测及抗性治理策略[J]. 浙江农业科学, 2011(1): 100-101.