

· 研究简报 ·

# 五种农药对中华蜜蜂和意大利蜜蜂工蜂的经口毒性比较

王瀛寰, 张艳峰, 张旭, 李建中, 王会利\*

(中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

**摘要:** 分别采用“小烧杯法”和“饲喂管法”测定了5种农药对中华蜜蜂和意大利蜜蜂工蜂的经口毒性。比较了2种方法的优缺点以及2个蜂种对农药毒性的敏感程度差异。结果表明: 无论是“意蜂”还是“中蜂”, “小烧杯法”得到的半致死浓度(LC<sub>50</sub>)均不同程度地低于“饲喂管法”; 与“意蜂”相比, “中蜂”对药剂更敏感, 可能更适用于农药的毒理评价实验。

**关键词:** 中华蜜蜂; 意大利蜜蜂; 毒性; 小烧杯法; 饲喂管法

**DOI:** 10.3969/j.issn.1008-7303.2012.04.17

中图分类号: S481.1 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2012)04-0453-04

## Oral toxicity of five pesticides to *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera*

WANG Yinghuan, ZHANG Yanfeng, ZHANG Xu, LI Jianzhong, WANG Huili\*

(Research Center for Eco-Environmental Science, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

**Abstract:** Two methods "small breaker" and "feeding tube" were used to measure the oral toxicity of five pesticides to *Apis cerana cerana* Fab. and *Apis mellifera* L.. The relative merits of the two methods and the sensitivity of the two kinds of honeybees to the toxicants were compared. The results showed that the LC<sub>50</sub> values determined by "small breaker" method were lower than that by "feeding tube" method. Furthermore, comparing with *A. mellifera*, *A. cerana cerana* was more sensitive to pesticides tested, which suggested that *A. cerana cerana* might be more suitable for use in the toxicological evaluation of pesticides.

**Key words:** *Apis cerana cerana*; *Apis mellifera*; toxicity; small breaker; feeding tube

蜜蜂对农药的敏感程度极高, 1990年至今, 因农药中毒导致蜜蜂死亡、蜂群数量骤减的现象遍及北美、欧洲、亚洲等许多国家和地区, 已成为全球普遍关注的环境污染与生物安全问题<sup>[1]</sup>。

我国《化学农药安全评价实验准则》<sup>[2]</sup>中推荐采用“小烧杯法”检测农药对蜜蜂的经口毒性, 而许多国家和国际组织则通常采用国际经济合作与发展组织(OECD)推荐的“饲喂管法”<sup>[3]</sup>。此外, OECD

及《化学农药安全评价实验准则》中推荐采用的实验蜂种均为成年意大利蜜蜂工蜂(*Apis mellifera* L., 简称“意蜂”)。有报道称超过70%的农药品种对“意蜂”为高毒或剧毒<sup>[4]</sup>。杨艳霞等<sup>[5]</sup>对“小烧杯法”与“饲喂管法”对“意蜂”的经口毒性差异进行了研究, 结果表明“小烧杯法”会过高估计农药的经口毒性结果。中华蜜蜂(*Apis cerana cerana* Fab., 简称“中蜂”)为我国本土特有的蜜蜂种类, 而“意蜂”

收稿日期: 2012-02-14; 修回日期: 2012-04-17.

作者简介: 王瀛寰, 男, 硕士研究生, E-mail: wang-yinghuan@163.com; \* 通信作者(Author for correspondence): 王会利, 助理研究员, 主要研究方向为农药环境行为及环境毒理, E-mail: huiliwang@rcees.ac.cn

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2010AA065105).

属于外来物种,其入侵已造成“中蜂”等中国特有蜂种分布和数量的锐减<sup>[6]</sup>,同时农药等化学品的大量使用也是造成野生“中蜂”种群衰退的原因之一。研究农药等化学污染物对中国特有蜂种的危害效应,可以更好地保护本地物种。为此笔者比较了5种农药对“意蜂”和“中蜂”在“小烧杯法”及“饲喂管法”测定中摄入毒性的差别,探讨了使用“中蜂”作为我国农药摄入毒性实验中受试物种的可行性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 蜜蜂

意大利蜜蜂 *Apis mellifera* L. 由中国农业科学院蜜蜂研究所提供,中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* Fab. 由北京市密云县中华蜜蜂谷提供。全部实验用蜂均为同一蜂群中身体健康、大小一致的成年工蜂。

### 1.2 蜂笼

采用上下均为纱网的木质蜂笼,长、宽、高分别为 14.4 cm × 10.5 cm × 12.4 cm,木板厚度为 1 cm 左右,纱网孔径为 2.5 mm。

### 1.3 药剂

2.5% 高效氯氟氰菊酯乳油 (*lambda*-cyhalothrin 25 EC) (江苏丰登农药有限公司); 1.8% 阿维菌素乳油 (abamectin 18 EC) (广西南宁泰达丰化工有限公司); 2% 高效氯氟氰菊酯·甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 (高氯甲维盐) 微乳剂 (*beta*-cypermethrin + emamectin benzoate 20 ME) (河北威远生物化工股份有限公司); 20% 甲基立枯磷乳油 (tolclofos-methyl 200 EC) (高密建滔化工有限公司); 98% 乐果原药 (dimethoate technical) (湖南海利常德农药化工有限公司)。

### 1.4 实验方法

1.4.1 蜜蜂个体大小比较 采用低浓度的二氧化碳暂时麻醉蜂群,取供试“意蜂”及“中蜂”各 100 只,称质量。重复 3 次,取平均值。

1.4.2 毒力测定 “小烧杯法”参照《化学农药环境安全评价试验准则》<sup>[2]</sup>,“饲喂管法”参照 OECD 颁布的“化学品测试准则 No. 213”<sup>[3]</sup>。实验在人工气候箱中进行,温度控制在 (25 ± 1) °C,相对湿度 60% 左右。于实验开始后第 24 和第 48 h 分别检查各浓度组蜜蜂中毒和死亡情况。重复 3 次,同时设空白对照。

1.4.3 数据处理 以药剂浓度的对数值为自变量 ( $x$ ),以相应浓度下蜜蜂死亡率的几率值为因变量 ( $Y$ ),采用 SPSS 数据处理软件及 Probit 程序进行回

归分析,建立“剂量-效应”线性方程,计算出  $LC_{50}$  (或  $LD_{50}$ ) 值及其 95% 置信限。

1.4.4 毒性等级划分标准 分别参照我国《化学农药安全评价实验准则》<sup>[2]</sup> 中“小烧杯法”及美国国家环保署 (USEPA) “农药对蜜蜂和其他非靶标昆虫的毒性标准”<sup>[7]</sup> 中“饲喂管法”的毒性等级划分标准进行。“饲喂管法”中触杀毒性等级划分标准的  $LD_{50}$  值并非仅针对接触毒性而言,其他如经口毒性若采用“饲喂管法”进行测定,其结果也可以用  $LD_{50}$  值来衡量<sup>[5]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 “意蜂”与“中蜂”的个体大小

形态观察表明,“中蜂”较“意蜂”略小;300 只“意蜂”和“中蜂”的平均个体质量分别为 0.109 66 和 0.096 41 g,即“意蜂”比“中蜂”平均重 12.08%。

### 2.2 供试 5 种农药对“意蜂”的毒性

2.2.1 “小烧杯法”测定结果 由表 1 可知:乐果原药、2.5% 高效氯氟氰菊酯乳油对“意蜂”的毒性为剧毒;1.8% 阿维菌素乳油和 2% 高氯甲维盐微乳剂为高毒;20% 甲基立枯磷乳油为中等毒性。

2.2.2 “饲喂管法”测定结果 参照杨艳霞等<sup>[5]</sup> 的方法,将“饲喂管法”中的  $LC_{50}$  值换算成  $LD_{50}$  值 (表 2)。从中可看出:乐果原药、2.5% 高效氯氟氰菊酯乳油和 2% 高氯甲维盐微乳剂对“意蜂”为高毒;1.8% 阿维菌素乳油和 20% 甲基立枯磷乳油为中等毒性。

对比表 1 和表 2 可看出,“小烧杯法”测得的  $LC_{50}$  值均比“饲喂管法”测得的低,即就同一种供试药剂而言,采用“小烧杯法”测得的毒性结果要比“饲喂管法”的大。这与文献<sup>[5]</sup> 结果一致。其原因可能与 2 种方法中蜜蜂与药液的接触面积以及接触时间不同有关。

### 2.3 供试 5 种农药对“中蜂”的毒性

2.3.1 “小烧杯法”测定结果 从表 3 可知,“小烧杯法”中各供试农药对“中蜂”的毒性差异与使用“意蜂”作为受试物种时的结果对应,说明将“中蜂”作为该方法中农药毒性实验的受试物种是可行的。

比较表 1 和表 3 的结果可得,同一种供试农药对“中蜂”的  $LC_{50}$  值比对“意蜂”的低,说明“中蜂”对农药更为敏感,因此选择中国本地蜂种作为受试动物并制定相应的毒性标准将更有利于对本地物种的保护。

2.3.2 “饲喂管法”测定结果 从表4可看出,“饲喂管法”中各农药对“中蜂”的毒性结果与“小烧杯法”的相似,且均表现出与对“意蜂”相同的毒性趋势,说明采用“中蜂”作为“饲喂管法”评定农药毒性

时的受试物种也是可行的。且“饲喂管法”测得的毒性结果也均比“小烧杯法”的低,与对“意蜂”的结果一致。

表1 “小烧杯法”测得的5种农药对“意蜂”的经口毒性  
Table 1 The LC<sub>50</sub> values of pesticide to *A. mellifera* by "small beaker" method

供试药剂 Tested pesticides	时间 Time/h	毒性回归方程 Toxicity regression equations	卡方值 Chi-square	显著性值 Sig	LC <sub>50</sub> (95%置信限, 95% CL)/(mg/L)
2.5% 高效氯氟氰菊酯乳油 <i>lambda</i> -cyhalothrin 25 EC	24	$Y = 1.207x + 0.292$	2.485	0.478	0.573(0.390 ~ 0.825)
1.8% 阿维菌素乳油 abamectin 18 EC	48	$Y = 1.309x + 0.446$	3.771	0.287	0.456(0.309 ~ 0.632)
2% 高氯甲维盐微乳剂 <i>beta</i> -cypermethrin + emamectin benzoate 20 ME	24	$Y = 2.108x - 1.493$	0.629	0.890	5.11(4.26 ~ 6.12)
	48	$Y = 1.678x - 0.465$	2.372	0.668	1.89(1.55 ~ 2.36)
20% 甲基立枯磷乳油 tolclofos-methyl 200 EC	24	$Y = 1.689x - 1.474$	1.885	0.597	7.46(6.03 ~ 9.38)
	48	$Y = 1.677x - 0.575$	4.383	0.223	2.20(1.78 ~ 2.76)
98% 乐果原药	24	$Y = 1.896x - 2.795$	2.041	0.564	29.8(24.6 ~ 36.6)
98% dimethoate technical	48	$Y = 1.802x - 2.496$	2.030	0.566	24.3(19.9 ~ 30.1)
	24	$Y = 2.052x - 0.080$	0.520	0.915	1.09(0.806 ~ 1.99)
	48	$Y = 2.615x + 1.151$	4.475	0.214	0.363(0.304 ~ 0.432)

表2 “饲喂管法”测得的5种农药对“意蜂”的经口毒性  
Table 2 The LC<sub>50</sub> and LD<sub>50</sub> values of pesticide to *A. mellifera* by "feeding tube" method

供试药剂 Tested pesticides	时间 Time /h	毒性回归方程 Toxicity regression equations	卡方值 Chi-square	显著性值 Sig	LC <sub>50</sub> (95% CL)/ (mg/L)	LD <sub>50</sub> (95% CL)/ (μg/bee)
2.5% 高效氯氟氰菊酯乳油 <i>lambda</i> -cyhalothrin 25 EC	24	$Y = 1.886x + 2.965$	1.884	0.597	2.70(2.10 ~ 3.40)	0.0270(0.0210 ~ 0.0340)
1.8% 阿维菌素乳油 abamectin 18 EC	48	$Y = 1.805x + 2.942$	1.801	0.615	2.30(1.80 ~ 3.00)	0.0230(0.0180 ~ 0.0300)
2% 高氯甲维盐微乳剂 <i>beta</i> -cypermethrin + emamectin benzoate 20 ME	24	$Y = 1.808x - 0.247$	1.833	0.608	137(111 ~ 170)	1.37(1.12 ~ 1.70)
	48	$Y = 2.010x + 0.728$	1.700	0.982	43.4(36.0 ~ 52.5)	0.434(0.360 ~ 0.525)
20% 甲基立枯磷乳油 tolclofos-methyl 200 EC	24	$Y = 1.702x + 1.217$	0.988	0.804	19.3(15.6 ~ 24.1)	0.193(0.156 ~ 0.241)
	48	$Y = 1.825x + 2.101$	4.065	0.255	7.10(5.80 ~ 8.70)	0.0710(0.058 ~ 0.087)
98% 乐果原药	24	$Y = 1.823x + 0.308$	2.360	0.500	67.80(55.5 ~ 83.8)	0.678(0.555 ~ 0.838)
98% dimethoate technical	48	$Y = 1.753x + 0.522$	1.672	0.643	50.4(41.0 ~ 62.8)	0.504(0.410 ~ 0.628)
	24	$Y = 1.926x + 2.024$	5.646	0.130	8.90(5.60 ~ 14.8)	0.0890(0.0560 ~ 0.148)
	48	$Y = 1.745x + 2.569$	6.040	0.110	3.40(2.00 ~ 6.20)	0.0340(0.0200 ~ 0.0620)

表3 “小烧杯法”测得的5种农药对“中蜂”的经口毒性  
Table 3 The LC<sub>50</sub> values of pesticide to *A. cerana cerana* by "small beaker" method

供试药剂 Tested pesticides	时间 Time/h	毒性回归方程 Toxicity regression equations	卡方值 Chi-square	显著性值 Sig	LC <sub>50</sub> (95% CL)/ (mg/L)
2.5% 高效氯氟氰菊酯乳油 <i>lambda</i> -cyhalothrin 25 EC	24	$Y = 1.166x + 0.378$	0.694	0.875	0.474(0.305 ~ 0.682)
1.8% 阿维菌素乳油 abamectin 18 EC	48	$Y = 0.909x + 0.403$	0.052	0.997	0.360(0.172 ~ 0.568)
2% 高氯甲维盐微乳剂 <i>beta</i> -cypermethrin + emamectin benzoate 20 ME	24	$Y = 1.668x - 1.159$	3.033	0.387	4.96(4.00 ~ 6.35)
	48	$Y = 1.997x - 0.371$	3.433	0.330	1.53(1.27 ~ 1.86)
20% 甲基立枯磷乳油 tolclofos-methyl 200 EC	24	$Y = 1.683x - 1.148$	1.664	0.645	4.81(3.88 ~ 6.04)
	48	$Y = 1.893x - 0.433$	3.141	0.370	1.69(1.40 ~ 2.08)
98% 乐果原药	24	$Y = 1.738x - 2.429$	1.301	0.729	25.0(20.3 ~ 31.0)
98% dimethoate technical	48	$Y = 1.822x - 2.370$	2.598	0.458	20.0(16.3 ~ 24.9)
	24	$Y = 2.396x + 0.440$	2.175	0.537	0.655(0.539 ~ 0.863)
	48	$Y = 1.723x + 1.074$	1.659	0.646	0.238(0.193 ~ 0.297)

表 4 “饲喂管法”测得的 5 种农药对“中蜂”的经口毒性

Table 4 The LC<sub>50</sub> and LD<sub>50</sub> values of pesticide to *A. cerana cerana* by "feeding tube" method

供试药剂 Tested pesticides	时间 Time /h	毒性回归方程 Toxicity regression equations	卡方值 Chi-square	显著性值 Sig	LC <sub>50</sub> (95% CL)/ (mg/L)	LD <sub>50</sub> (95% CL)/ (μg/bee)
2.5% 高效氯氟氰菊酯乳油 <i>lambda</i> -cyhalothrin 25 EC	24	$Y = 1.484x + 2.845$	2.577	0.462	1.20(0.800 ~ 1.60)	0.012 0(0.008 00 ~ 0.016 0)
1.8% 阿维菌素乳油 abamectin 18 EC	48	$Y = 1.297x + 2.566$	3.859	0.277	1.10(0.700 ~ 1.50)	0.011 0(0.007 00 ~ 0.015 0)
2% 高氯甲维盐微乳剂 <i>beta</i> -cypermethrin + emamectin benzoate 20 ME	24	$Y = 1.664x - 0.096$	5.338	0.149	114(69.0 ~ 208)	1.14(0.694 ~ 2.08)
24% 甲基立枯磷乳油 tolclofos-methyl 200 EC	48	$Y = 2.137x + 0.948$	4.211	0.240	36.0(30.1 ~ 43.1)	0.360(0.301 ~ 0.431)
98% 乐果原药 98% dimethoate technical	24	$Y = 1.619x + 1.507$	2.413	0.491	11.7(9.40 ~ 14.9)	0.117(0.094 0 ~ 0.149)
24% 甲基立枯磷乳油 tolclofos-methyl 200 EC	48	$Y = 1.934x - 2.688$	3.899	0.273	4.10(3.40 ~ 5.00)	0.041 0(0.034 0 ~ 0.050 0)
98% 乐果原药 98% dimethoate technical	24	$Y = 1.804x + 0.49$	2.087	0.554	53.5(43.7 ~ 66.0)	0.535(0.437 ~ 0.660)
98% 乐果原药 98% dimethoate technical	48	$Y = 1.865x + 0.622$	1.570	0.666	46.4(38.1 ~ 57.5)	0.464(0.381 ~ 0.575)
98% 乐果原药 98% dimethoate technical	24	$Y = 1.893x + 2.948$	3.013	0.390	2.80(2.30 ~ 3.40)	0.028 0(0.023 0 ~ 0.034 0)
98% 乐果原药 98% dimethoate technical	48	$Y = 1.874x + 3.916$	1.268	0.737	0.800(0.700 ~ 1.00)	0.008 00(0.007 00 ~ 0.010 0)

### 3 讨论

研究表明,对于同一种供试药剂,“小烧杯法”测得的毒性结果均比“饲喂管法”测得的大,与文献[5]的报道相符。推测这可能与摄食量、摄食面积以及摄食的时间相关。然而文献[5]中同时指出:由于摄食时间的差异,“饲喂管法”中不同时间 LC<sub>50</sub> 的比值(24 h/48 h)均比“小烧杯法”中的偏低,说明药剂毒性的积累作用在“小烧杯法”实验中表现得更为明显。但在本实验中,“饲喂管法”LC<sub>50</sub> 的比值为 1.090 ~ 3.500,而“小烧杯法”的为 1.226 ~ 3.388,差异并不明显。分析其原因可能是因为虽然 2 种方法在实际摄入量上存在一定差异,但由于本实验的 5 种供试农药急性毒性较强,因此尽管“小烧杯法”中蜜蜂接触药液的时间更长,但并未明显表现出比“饲喂管法”更大的积累作用。因此,要准确评定 2 种毒力测定方法 LC<sub>50</sub> 比值变化的趋势,还需综合中毒和低毒农药的实验结果进一步进行论证。同时,虽然“小烧杯法”的测定结果在包含经口毒性的同时还包含了一定的熏蒸及接触毒性,但该结果能否完全反映自然条件下农药对蜜蜂的毒害作用也还需进一步的田间试验进行论证。

研究表明,不同毒性等级的农药在“意蜂”和“中蜂”上表现出相似的毒性差异,即使用“中蜂”代替“意蜂”作为农药毒性实验的受试物种是可行的。同时由于“中蜂”体型偏小且对农药更为敏感,因此其更适用于农药的毒理评价研究。此外,筛选本地蜂种中华蜜蜂作为农药及其他化学品毒性实验的受试动物,并由此确定新的蜜蜂毒理实验分级标准,将更有利于对我国本地蜂种的保护。

### 参考文献 (Reference):

- [1] 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.  
BU Yuanqing, SHAN Zhengjun, ZHOU Junying, et al. Research review on biological toxicity and safety assessment of pesticides to honeybee[J]. *Agrochemicals*, 2009, 48(6):399-401. (in Chinese)
- [2] 蔡道基,杨佩芝,龚瑞忠,等. 化学农药环境安全评价试验准则[S]. 北京:国家环保总局,1989:19.  
CAI Daoji, YANG Peizhi, GONG Ruizhong, et al. Testing guidelines for assessing environmental safety of chemical pesticides [S]. Beijing: State Environment Protection Administration of China, 1989:19. (in Chinese)
- [3] No. 213, OECD guidelines for the testing of chemicals, honeybees, acute oral toxicity test [S]. Paris, France: OECD, 1998.
- [4] 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 Shuai, YUAN Shankui, CAI Bing, et al. The acute oral toxicity of 300 formulated pesticides to *Apis mellifera* [J]. *Agrochemicals*, 2011, 50(4):278-280. (in Chinese)
- [5] 杨艳霞,金绍强,李少南,等. 五种杀虫剂对蜜蜂的经口毒性及风险评价[J]. 农药学报,2008,10(2):226-231.  
YANG Yanxia, JIN Shaoqiang, LI Shaonan, et al. Oral toxicity and risk of five insecticides to honeybees[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2008, 10(2):226-231. (in Chinese)
- [6] 杨冠煌. 引入西方蜜蜂对中蜂的危害及生态影响[J]. 昆虫学报,2005,48(3):401-406.  
YANG Guanhuang. Harm of introducing the western honeybee *Apis mellifera* L. to the Chinese honeybee *Apis cerana* F. and its ecological impact [J]. *Acta Entomol Sin*, 2005, 48(3):401-406. (in Chinese)
- [7] U. S. Environmental Protection Agency (USEPA). Technical overview of ecological risk assessment[EP/OL]. [2012-04-06]. [http://www.epa.gov/oppefed1/ecorisk\\_ders/toera\\_analysis\\_eco.htm#Ecotox](http://www.epa.gov/oppefed1/ecorisk_ders/toera_analysis_eco.htm#Ecotox)

(责任编辑:唐 静)