

壬基酚对家蚕(*Bombyx mori*)生长发育的影响

袁红霞^{1,4}, 裔洪根², 徐世清^{1,3}

(1.苏州大学医学部应用生物学系,江苏 苏州 215123 2.苏州大学科学技术处,江苏 苏州 215006 3.苏州大学蚕桑研究所,江苏 苏州 215123 4.苏州科技学院化学与生物工程学院,江苏 苏州 215009)

摘要 采用添加环境激素壬基酚(Nonylphenol, NP)人工饲料饲养家蚕(*Bombyx mori*)的试验方法,观察了家蚕的生长速度、生长量、变态、生命力情况。结果表明,连续取食 0.500 mmol·L⁻¹ 以上浓度壬基酚的饲料,家蚕幼虫和蛹的生长速度、生长量、发育整齐度、生命力等都明显下降,在发育后期和蜕皮、化蛹、羽化等变态时期更加明显。同时, NP 在蚕体内可能有累积作用。2.000 mmol·L⁻¹ 浓度的 NP 能使家蚕幼虫很快死亡。NP 对家蚕生长发育的影响有明显的性别差异,导致家蚕的雌雄大小开差缩小,并且具有显著的浓度效应和时间效应,是环境激素效应的典型表现。

关键词 环境激素 壬基酚 家蚕 生长发育

中图分类号: X503.223 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2009)04-0777-06

Effects of Nonylphenol on the Development of Silkworm, *Bombyx mori*

YUAN Hong-xia^{1,4}, YI Hong-gen², XU Shi-qing^{1,3}

(1.Department of Applied Biology, Department of Medicine, Soochow University, Suzhou 215153, China; 2.Department of Science Research, Soochow University, Suzhou 215006, China; 3.Institute of Sericulture, Soochow University, Suzhou 215123, China; 4.Chemical and Bioengineering College, Suzhou Science and Technology College, Suzhou 215009, China)

Abstract Environmental hormone, a kind of synthetic chemical substances, exist extensively in nature, and show estrogenic effects on many kinds of animals. Nonylphenol (NP) is one of the newly-defined environmental hormones. The aim of this study was to evaluate the estrogenic effects of NP on silkworm (*Bombyx mori*). Silkworms were placed in culture boxes feeding with NP-added (0.125, 0.250, 0.500, 1.000 and 2.000 mmol·L⁻¹) artificial feedstuffs in a culture container kept at constant temperature and humidity in each instar, in which each treatment involved three boxes and each boxes received 50 silkworms. The development velocity, weight growth index, metamorphosis and vitality index in different instars and pupas were investigated. The results indicated that, with treatment increasing, at 0.500 mmol·L⁻¹ NP or higher, development velocity, weight growth, metamorphosis and vitality of larva and pupa were decreased significantly, especially at late development stages of anaphase, ecdysis, pupation and eclosion. However, there was no obviously difference between 0.125 mmol·L⁻¹ NP and normal treatment. In addition, NP might have accumulative effects on silkworm. At 2.000 mmol·L⁻¹, NP resulted in larval mortality quickly. NP also demonstrated sexual difference in silkworm development as shown by reduced errand between male and female individuals after exposure. The present study suggested that NP had distinctive concentration and time effects on silkworm, commonly found in environmental hormones.

Keywords environmental hormone; Nonylphenol(NP); *Bombyx mori*; development

环境激素是人工合成并广泛存在于自然界,对鸟类、爬行类和哺乳类动物表现出雌激素效应的化学物质。壬基酚(Nonylphenol, NP)是已经被确认的一种环境激素^[1],其被广泛用作各种清洁剂和塑料添加剂成

分,常温下相当稳定^[2]。NP 可经多种途径进入生物体内,并具有生物蓄积性^[3-4]。高浓度 NP 能使北极鹅丧失迁移能力^[5],干扰鲑鱼的渗透压调节系统,严重影响了大西洋鲑鱼种群的生存^[6]。近年来,在我国太湖水中检测到 NP 含量平均高达 1.6 μg·L⁻¹^[7],在上海市自来水、重庆嘉陵江和长江水环境中也检测出 NP 的存在^[8]。NP 对环境动物生殖能力的干扰有越来越严重的趋势。

昆虫对自然环境反应敏感,对人类生产和生活有重要影响。农业昆虫中鳞翅目占 60%以上,家蚕是其

收稿日期: 2008-07-21

基金项目: 国家重点基础研究发展计划“973 项目”(2005CB121005); 苏州大学科研基金(Q3113403, Q3138539)

作者简介: 袁红霞(1971—),女,江苏响水人,在读博士,主要从事生态毒理学方面的研究。E-mail: yhx99@yeah.net

通讯作者: 徐世清 E-mail: xsqx@suda.edu.cn

模型生物之一。目前为止,国内只有苯酚^[9-10]对鳞翅目昆虫影响的报道,同时国内外都未见 NP 对昆虫影响的报告。我们研究了 NP 对鳞翅目昆虫家蚕生殖发育的影响,及其对家蚕卵巢细胞(BmN)和苜蓿丫纹夜蛾卵巢细胞(sf9)繁殖和 DNA 损伤的影响,发现 NP 对鳞翅目昆虫有显著的环境激素活性。

大部分生物环境监测研究都侧重于急性毒性,如 LD₅₀ 和死亡(或毒害的)形态特征。由于野外昆虫缺乏遗传和发育的一致性,无法获得处理间具严格可比性的生长发育数据。为此,本研究以鳞翅目昆虫家蚕为对象,调查了 NP 对家蚕整个世代的生长发育、生命力的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

家蚕使用人工饲料摄食性很好的皓月品种原种,具有遗传和发育的高度一致性,蚕卵由江苏省蚕种公司提供。壬基酚为国产(纯度 99.9%)。

1.2 药物添加方法

通过生物试验证实高温消毒不会降低 NP 对家蚕的毒性。用少量无水乙醇配制壬基酚原液,与饲料干粉梯级混合法混合后,加水充分拌和,装入保鲜袋,放进饭盒定型,高温消毒(120℃,20 min),低温(5℃)保存。根据预备试验结果,实验设 NP 浓度 0.000、0.125、0.250、0.500、1.000 和 2.000 mmol·L⁻¹ 6 区,各处理均设 3 个重复,每个重复 50 头。

1.3 家蚕饲养

蚕卵用 22~25℃,RH75%~85% 24 h 光照条件保护至孵化。幼虫饲养方法为:1~3 龄 27℃、RH80%~85%;4~5 龄 25℃、RH75%~80%。1 龄每 3 d 给饵 1 次,2~4 龄 2 d 1 次,5 龄每 1 d 1 次。每次饲食时间都是在起蚕后的 4 h 左右。逐条蚕适熟上簇(终止给饵),纸盒内独立结茧,结茧环境 25℃,RH65%~75%。蚕茧环境 25℃,RH75%~80%,保护至羽化。

1.4 生长发育调查

调查收蚁后 24 h 疏毛率(刚毛舒展蚕的百分率)、收蚁后 48 h 体色转变个体比例(转色率)、体重变化(生长量)和茧层重量(外分泌蛋白质重量)。24 h 疏毛率和 48 h 转色率调查每处理 3×50 头,体重调查为了避免进食的影响,调查各龄见起(出现蜕皮蚕)时的眠蚕体重(10 头);为了了解最大生长量情况,调查了 5 龄蚕的每日体重变化(雌雄各 5 头)。在上簇(开始吐丝结茧)后第 8 d,调查所有蚕茧的全茧量和茧层量,

计算茧层率。

1.5 生命力调查

家蚕的生命力调查以 3 龄起蚕绝食生命时数、4 龄起蚕结茧率、蚕茧的死笼率(生命力相关的死亡率)和羽化率表示。每个处理取 3×10 头 3 龄起蚕,放入消毒培养皿,25℃、RH75%~85% 环境下,逐头记录饥饿死亡时间,作为 3 龄起蚕绝食生命时数。每个处理取 2×50 头 4 龄起蚕,统计结茧蚕数,计算 4 龄起蚕结茧率;开始结茧后第 8 d,所结蚕茧全部破开,统计良蛹数量,计算死笼率。使用改良寇氏法计算半数致死浓度(LC₅₀)或半数中毒浓度(TC₅₀)^[11]。本试验使用人工饲料无菌饲养,基本没有出现出血死蛹、蝇蛆蛹、僵蚕和僵蛹现象。

1.6 数据处理

数据分析采用 SPSS 11.0 软件和 Microsoft Excel for Windows 2003。

2 结果与分析

2.1 NP 对家蚕生长发育的影响

2.1.1 NP 对家蚕疏毛率和转色率的影响

作为幼小昆虫生长的标志,家蚕在开始取食后表皮舒展,体表密集的刚毛散开,呈现疏毛症状。分别于开始给饵后 24 和 48 h 调查疏毛率和转色率,结果如图 1。0.125~0.500 mmol·L⁻¹ 浓度的 NP 处理,24 及 48 h 疏毛率与对照无显著差别($P>0.05$);而 NP 浓度达 1.000 mmol·L⁻¹,出现严重的避食现象,疏毛率与对照差异显著($P<0.01$);NP 浓度 1.500 mmol·L⁻¹,有一定数量的蚕死亡。按照寇氏法计算的对 24 h 疏毛率影响的半数中毒浓度 TC₅₀ 为 1.113 0 mmol·L⁻¹,对 48 h 转色率影响的 TC₅₀ 为 1.447 1 mmol·L⁻¹。

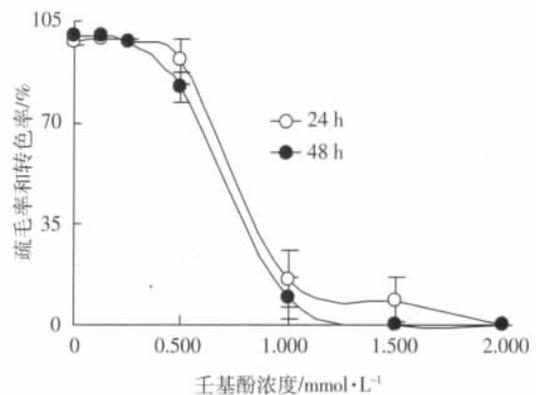


图 1 壬基酚对家蚕疏毛率和转色率的影响

Figure 1 Effects of nonylphenol on setae dispersion and body color change of silkworm larvae

2.1.2 NP 对家蚕发育速度的影响

从表 1 可以看出, 0.500 mmol·L⁻¹ 以下浓度 NP 区, 家蚕幼虫的发育速度与对照组差异不显著($P>0.05$), 而 1.000 mmol·L⁻¹ 高浓度区家蚕幼虫的发育速度显著迟缓($P<0.05$), 蚕体大小开差明显, 幼虫期经过比对照延长了 10% 左右, 5 龄第 7 d 后陆续死亡, 不能完成整个世代。而 2.000 mmol·L⁻¹ 区家蚕幼虫不能完成稚蚕(1~3 龄)期发育, 绝大多数在 1 龄死亡。

表 1 壬基酚对家蚕发育速度的影响

Table 1 Effects of nonylphenol on the development velocity

| of silkworm | | | |
|--------------------------------|---------------|---------------|-------------------|
| NP 浓度/ mmol·L ⁻¹ | 1~3 龄经过/ h | 4~5 龄经过/ h | 簇中(吐丝及蛹期)经过/ h |
| 0.000 | 314±3.2 | 336±6.5 | 360±6.5 |
| 0.125 | 314±8.1 | 336±9.2 | 382±5.2 |
| 0.250 | 319±5.7 | 346±10.0 | 384±2.8 |
| 0.500 | 321±6.5 | 356±9.3 | 402±16.1 |
| 1.000 | 345±5.8* | 390±11.6** | |

注: 不结茧蚕 5 龄经过无法计算, 未统计在内。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图 2 为不同浓度 NP 处理蚕幼虫各龄眠蚕体重的变化。在 0.500 mmol·L⁻¹ 以下浓度的 NP 处理, 1~3 龄幼虫的眠蚕体重与对照组无明显差异($P>0.05$), 但从 3 龄起, 眠蚕体重比对照略轻。而 1.000 mmol·L⁻¹ 浓度区, 眠蚕的体重一直较对照轻, 且开始出现区内个体入眠时间开差大, 发育出现不齐现象, 至 4 龄时眠蚕体重只有对照的 72%。说明 NP 对家蚕稚蚕的生长发育影响相对较小, 但至大蚕期 NP 的抑制作用逐步表现, 并且有浓度效应, 高浓度 NP 不仅影响个体的体重增长, 还影响群体的发育整齐度。

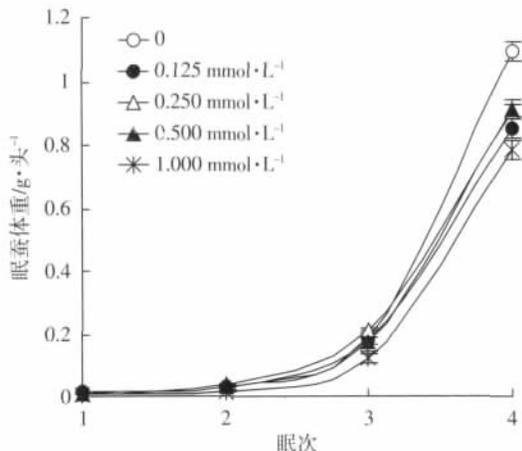


图 2 壬基酚对家蚕幼虫眠蚕体重的影响

Figure 2 Effects of nonylphenol on the weight of dormant silkworm larvae

为了了解 NP 对家蚕的最大生长量的影响, 进一步调查了 5 龄蚕的每日体重变化。从图 3 可见, NP 处理后家蚕雌性幼虫 5 龄后期体重增长停止或体重减轻的时间比对照区蚕早, 雄蚕也有类似结果。也就是说 NP 处理区比对照蚕幼虫成熟早。

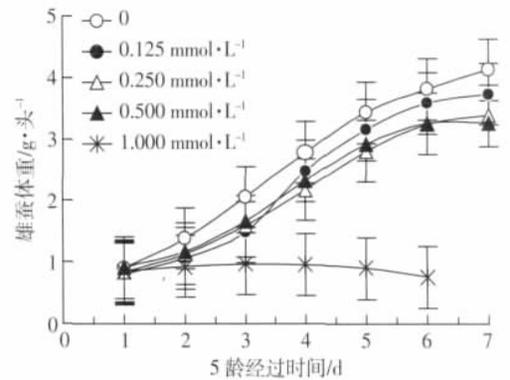
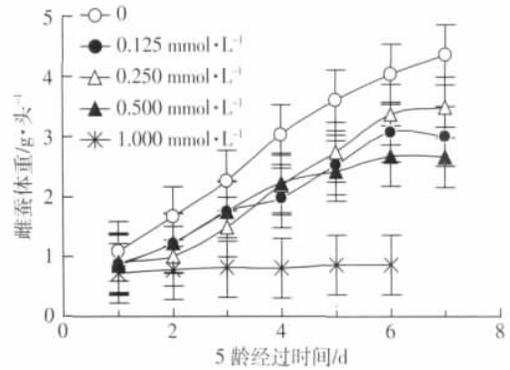


图 3 壬基酚对家蚕 5 龄幼虫体重的影响

Figure 3 Effects of nonylphenol on the weight of silkworm larvae in fifth instars

无论雌雄, 幼虫期一直摄入 NP, 5 龄体重比对照轻(图 3)。1.000 mmol·L⁻¹ 浓度区的家蚕 5 龄期体重几乎没有增加, 到第 7 d 全部死亡。说明 NP 对家蚕 5 龄幼虫体重增加的抑制作用浓度效应明显, 而且对家蚕的生长发育有严重抑制作用。

家蚕幼虫期添食 NP, 对存活幼虫所结蚕茧和造丝与吐丝效率(茧层率)影响不大。虽然 0.500 mmol·L⁻¹ 浓度区蚕茧的重量(全茧量)低于对照(图 4), 代表丝物质合成和分泌效率的茧层率也略低于对照(图 5), 但差异都不显著($P>0.05$)。且 NP 对家蚕幼虫这两项性状的影响有性别差异, 值得注意的是, NP 处理后雌雄个体间的开差比对照缩小(图 4、图 5)。1.000 mmol·L⁻¹ 浓度的 NP 幼虫期添食, 幼虫全部不能结茧。说明 NP 在抑制家蚕的生长发育同时, 也影响家蚕吐丝结茧的生理功能, 阻碍丝物质形成, 但没有对生长发育的影响大。

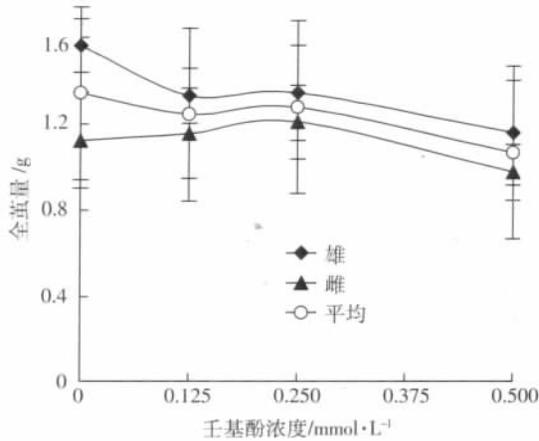


图4 壬基酚对家蚕全茧量的影响

Figure 4 Effects of nonylphenol on the pod weight of silkworm

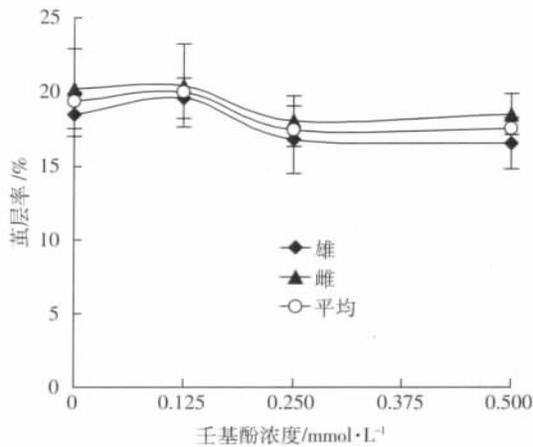
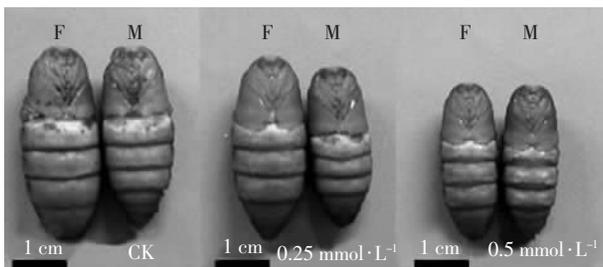


图5 壬基酚对家蚕茧层率的影响

Figure 5 Effects of nonylphenol on the spin efficiency of silkworm

2.1.3 NP对家蚕发育整齐度的影响

从2龄起蚕的形态看, NP浓度在0.500 mmol·L⁻¹以下, 添食区幼虫个体大小开差和发育整齐度与对照蚕之间没有明显差别(图6), 但1.000 mmol·L⁻¹浓度区蚕发育有开差, 发育速度也略慢于对照。至5龄第5 d时, 对照蚕大部分开始吐丝结茧, 群体进入盛熟阶



F、M 分别表示雌和雄

图6 壬基酚对家蚕蛹发育的影响

Figure 6 Effects of nonylphenol on the pupa development of silkworm

段。1.000 mmol·L⁻¹的NP浓度区家蚕体色发黄, 皮肤松弛, 身体柔软, 吃饵量明显减少, 群体大小开差明显, 且出现部分死蚕。说明NP在家蚕幼虫体内可能有累积作用, 或者NP对家蚕幼虫群体发育整齐度的影响表现缓慢。

随幼虫期NP浓度增加, 所结蚕茧变小, 茧形开差增大, 蚕蛹体形也变小。NP对雄蛹的影响比雌蛹小, 导致雌雄蚕蛹的体形开差缩小(图6)。从蛾的形态上来看, 幼虫期NP添食区羽化的蚕蛾体形明显比对照小, 且有活动性减弱的趋势。说明NP对家蚕发育的影响在蛹期和蛾期表现更加严重, 浓度效应比幼虫期更加明显。进一步提示NP在家蚕体内可能有累积作用。

2.2 NP对家蚕生命力的影响

2.2.1 NP对家蚕死亡率的影响

图7为添食NP 72、96、120 h后家蚕的死亡率。0.500 mmol·L⁻¹浓度以下, 死亡率没有明显增加(P>0.05); 1.000 mmol·L⁻¹浓度区虽有个别蚕存活, 但生长发育停止, 无法进入2龄期; 2.000 mmol·L⁻¹浓度区则在72 h前全部死亡。NP浓度越高死亡率也越高, 且添食NP时间越长增加的死亡个数也越多。改良寇氏法计算出添毒72、96、120 h的半数致死浓度LC₅₀分别为1.139 2、1.137 4、1.069 5 mmol·L⁻¹。目前尚无正式颁布的化学物质对家蚕的毒性等级划分标准, 本研究依据国际卫生组织(WHO)的“外源化学物质急性毒性分级”标准^[11], 同时参照农药对家蚕的毒性分级^[12], 评定认为NP对家蚕的急性毒性属于中等毒性。

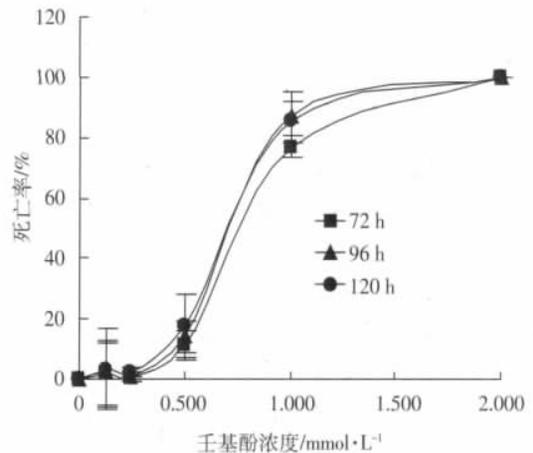


图7 壬基酚对家蚕死亡率的影响

Figure 7 Effects of nonylphenol on mortality of silkworm larvae

2.2.2 NP对家蚕3龄起蚕绝食生命时数的影响

从图8可以看出, NP 0.125 mmol·L⁻¹浓度区, 3

龄起蚕的绝食生命时数比对照略高, 0.250 mmol·L⁻¹ 以上浓度的 NP 处理时, 3 龄起蚕的绝食生命时数出现下降趋势, 且随着 NP 的浓度增加, 绝食生命时数下降更加明显; NP 浓度达到 1.000 mmol·L⁻¹ 时, 3 龄起蚕的绝食生命时数只有对照组的 59.2%。说明家蚕食下一定浓度的 NP 会严重削弱 1~2 龄稚蚕的体质, 而且浓度效应明显。

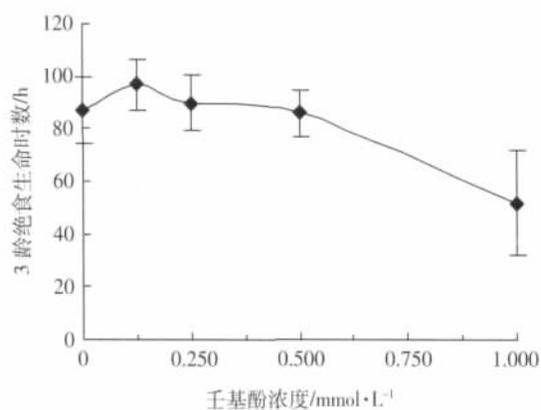


图 8 壬基酚对家蚕 3 龄起蚕绝食生命时数的影响

Figure 8 Effects of NP on the fasting period of silkworm larvae beyond 3rd instar

2.2.3 NP 对家蚕 4 龄起蚕结茧率及羽化率的影响

图 9 为整个幼虫期饲料中添加 NP 对结茧率的影响。随 NP 浓度增加, 以一定数量的 4 龄起蚕统计的结茧率(4 龄起蚕结茧率)下降明显, 1.000 mmol·L⁻¹ 浓度时没有幼虫能够结茧。而且对结茧后的家蚕化蛹也有严重不良影响, 表现为死笼率显著升高, 而且浓度效应明显。1.000 mmol·L⁻¹ 浓度时则在结茧前全部死亡(图 9)。说明 NP 对家蚕幼虫的生命力有严重不

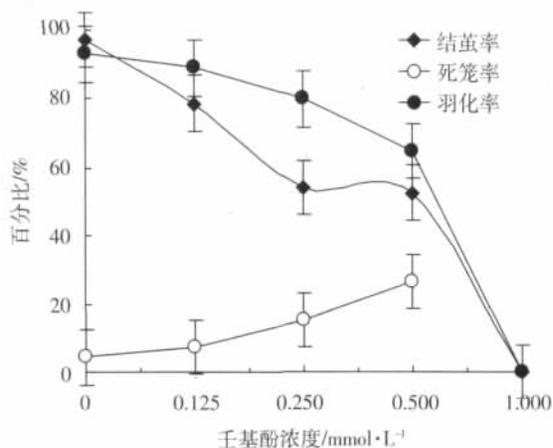


图 9 壬基酚对家蚕后期生命力的影响

Figure 9 Effects of nonylphenol on the vitality of silkworm at late development stage

良影响。

从羽化率指标看, 幼虫期摄食含 NP 的饲料, 蚕蛹变态成为蚕蛾的能力下降, 使用 0.250 mmol·L⁻¹ 以上的浓度, 蚕蛹的羽化率急速下降(图 9)。

可见, NP 对家蚕所有发育阶段都可能产生影响, 但在蜕皮、化蛹和羽化等变态时期影响更加明显, 而且随着家蚕发育, 越到后期 NP 的不良影响表现越明显。

3 结论与讨论

3.1 NP 对家蚕生长发育的影响

幼虫期 0.125~0.500 mmol·L⁻¹ 浓度 NP 添食家蚕的 24 h 疏毛率和 48 h 转色率、幼虫各龄的发育速度等指标与对照无明显差别; 而 1.000 mmol·L⁻¹ 高浓度区, 刚孵化幼虫在添食 24 h 的疏毛率和 48 h 的转色率与对照出现差别; 2.000 mmol·L⁻¹ 浓度区添食后 24 h 疏毛率只有 14%, 48 h 转色率为 0, 且有近 50% 的蚕死亡, 还出现严重的避食现象。NP 对家蚕皓月品种疏毛率的半数抑制浓度为 1.113 0 mmol·L⁻¹。幼虫期 0.125 mmol·L⁻¹ 以上浓度的 NP 添食, 不仅影响家蚕的体重增长, 还影响群体的发育整齐度, 这种影响有浓度效应。NP 对家蚕幼虫群体发育整齐度的影响在稚蚕期不明显, 至大蚕期影响加重。说明 NP 在家蚕幼虫体内有累积作用, 或者 NP 对家蚕幼虫群体发育整齐度的影响表现缓慢。

NP 在抑制家蚕的生长发育同时, 有危害家蚕吐丝结茧的生理功能和行为, 阻碍丝物质的形成作用。NP 对家蚕发育的影响在蛹期和蛾期表现更加严重, 浓度效应比幼虫期更加明显, 进一步显示 NP 在家蚕体内可能有累积作用。

NP 能够严重抑制家蚕的生长发育, 对家蚕具有很强的毒性。NP 对家蚕生长发育的影响有明显的性别差异, 导致家蚕的雌雄大小开差缩小, 并且具有显著的浓度效应和时间效应。

3.2 NP 对家蚕生命力的影响

家蚕幼虫饲喂 0.250 mmol·L⁻¹ 以上浓度的 NP, 以 3 龄起蚕绝食生命时数表示的 1~2 龄稚蚕的体质被严重削弱, 幼虫的生命力和吐丝结茧功能下降, 结茧后的家蚕化蛹和羽化困难, 死笼率显著升高, 羽化率明显下降, 而且浓度效应明显。1.000 mmol·L⁻¹ 浓度时则在结茧前全部死亡。幼虫期摄食含 0.250 mmol·L⁻¹ 以上浓度 NP 的饲料, 蚕蛹的羽化率急速下降。随着家蚕发育, 越到后期 NP 的不良影响表现越明显。

参考文献:

- [1] 王 宁, 金泰庭. 环境内分泌干扰物健康效应生物学机制研究进展[J]. 职业卫生与应急救援, 2004, 22(4) :194-196.
WANG Ning, JIN Tai-ting. Research advances in biologic mechanism studies on health effects of environmental endocrine disruptors[J]. *Occupational Health and Emergency Rescue*, 2004, 22(4) :194-196.
- [2] Ren L, Marquardt M A, Lech J J. Estrogenic effects of nonylphenol on pS2, ER and MUC1 gene expression in human breast cancer cells - MCF-7[J]. *Chem Biol Interact*, 1997, 104(1) :55.
- [3] Augustine Arukwe, Kjersti Roe. Molecular and cellular detection of expression of vitellogenin and zona radiata protein in liver and skin of juvenile salmon(*Salmo salar*)exposed to nonylphenol[J]. *Cell Tissue Res*, 2008, 331(3) :701-712.
- [4] Mai H El-Dakdoky, Mona A M Helal. Reproductive toxicity of male mice after exposure to nonylphenol[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2007, 79(2) :188-191.
- [5] Billinghamurst Z, Clave A S, Depledge M H, et al. Inhibition of barnacle settlement by the environmental estrogen 4-nonylphenol and the natural estrogen 17 β -estradiol[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 1998, 36(10) :833-839.
- [6] Fairchild W L, Jobling S, Gronen S, et al. Does an association between pesticide use and subsequent declines in catch of Atlantic salmon (*Salmo salar*)represent a case of endocrine disruption[J]. *Environmental Health Perspectives*, 1999,107 :349-358.
- [7] 范奇元, 金 泰, 蒋学之, 等. 我国部分地区环境中壬基酚的检测[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(11) :1372-1373.
- FAN Qi-yuan, JIN Tai, JIANG Xue-zhi, et al. Determination of endocrine disrupters nonylphenol [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2002, 18(11) :1372-1373.
- [8] 邵 兵, 胡建英, 杨 敏. 重庆流域嘉陵江和长江水环境中壬基酚污染状况调查[J]. 环境科学学报, 2002, 22(1) :12-16.
SHAO Bing, HU Jian-ying, YANG Min. A survey of nonylphenol in aquatic environment of Chongqing Valley[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2002, 22(1) :12-16.
- [9] 徐世清, 司马杨虎, 郑必平, 等. 大气苯酚对蓖麻蚕的影响及其对策[J]. 中国生态农业学报, 2001(1) :89-91.
XU Shi-qing, SIMA Yang-hu, ZHENG Bi-ping, et al. Effects of air-phenol on the castor silkworm(*Attacus ricini*)and its countermeasures[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2001(1) :89-91.
- [10] 徐世清, 戈志强, 郑必平, 等. 大气苯酚在蓖麻蚕生态系统中的积累和迁移[J]. 农业环境保护, 2000, 19(2) :72-75.
XU Shi-qing, GE Zhi-qiang, ZHENG Bi-ping, et al. Accumulation and shift of phenols in atmosphere of ecosystem of castor silkworm(*Attacus ricini*)[J]. *Agro-Environment Protection*, 2000, 19(2) :72-75.
- [11] 沈建忠主编. 动物毒理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002 :92-97.
SHEN Jian-zhong. Zoo ecotoxicology[M]. Beijing :Chinese Agriculture Press, 2002: 92-97.
- [12] 马 惠, 姜 辉, 陶传江, 等. 27 种农药对家蚕的毒性评价研究[J]. 农药学报, 2005, 7(2) :156-159.
MA Hui, JIANG Hui, TAO Chuan-jiang, et al. Toxicity evaluation of twenty-seven pesticides to *Bombyx mori*[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2005, 7(2) :156-159.