

• 专论与综述 •

农药对蜜蜂的风险评价技术进展

林小丽, 叶纪明*, 单正军, 周军英, 程 燕

(环境保护部 南京环境科学研究所, 南京 210042 农业部 农药检定所, 北京 100125)

摘 要: 在对美国国家环保局关于农药对蜜蜂的风险评价程序及工作进行调查研究的基础上, 详细介绍了该评价体系所涵盖的不同层次, 包括蜜蜂的室内急性毒性研究、叶面残留农药对蜜蜂的毒性影响的半田间研究及田间风险评价技术研究方面的进展, 旨在为我国建立农药对蜜蜂的风险评价技术体系提供一定的借鉴作用。

关键词: 农药; 蜜蜂; 生态风险评价; 田间风险评价

中图分类号: X820.4 S481.1

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2008)04-0404-06

Risk Assessment of Pesticides on Honey Bee

LIN Xiao-li YE Ji-ming*, SHAN zheng-jun ZHOU jun-ying CHENG yan

(Nanjing Institute of Environmental Sciences, SEPA, Nanjing 210042,

China; Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, Beijing 100125, China)

Abstract The methods and procedures issued by USEPA to assess the level of risk of pesticides at honey bee were introduced. The acute toxicity, semi-field study-honey bee toxicity of residues on foliage and field risk assessment system were included. These findings maybe useful for developing the risk assessment system of honey bee in China.

Key words pesticides; honey bee; ecological risk assessment; field risk assessment

蜜蜂是现代农业生产中主要的授粉物种^[1], 农药的不合理使用会对蜜蜂和农业生产产生不利影响^[2]。农药生态风险评价是农药管理的重要组成部分。美国国家环保局 (USEPA) 关于农药的生态风险评价研究过去主要是针对农药对水生生物的风险, 并开发出了一些有效的预测模型。有关农药对非靶标陆生生物蜜蜂的风险评价方法报道较少, 且主要是关于其室内急性毒性测定和半田间研究的。目前 USEPA 对于环境中残留农药对蜜蜂和其他有益昆虫的暴露并没有定量或者定性的论述, 通常直接应用农药的急性接触毒性来评定其对蜜蜂的风险, 同时通过研究该农药的叶

面残留毒性, 分析叶片残留农药对蜜蜂的危害和影响。本文主要以美国所采用的不同层次风险评价程序和方法为例, 介绍了农药对蜜蜂的风险评价技术进展。由于我国尚未建立起完善的农药对蜜蜂的风险评价程序, 该信息对我国相关评价体系的建立将具有一定的借鉴作用。

1 农药对蜜蜂的风险评价程序

农药对蜜蜂的影响是环境生态风险评价的一个重要组成部分, 目前大多引用 USEPA 的经典生态风险评价程序来进行。美国于 1998 年发布的

收稿日期: 2008-01-14; 修回日期: 2008-07-24.

作者简介: 林小丽 (1982-), 女, 福建漳州人, 硕士研究生, E-mail: csk1982@sohu.com; * 通讯作者 (Author for correspondence): 叶纪明 (1963-), 男, 上海人, 高级工程师, 主要从事农药安全性评价及管理工作, 联系电话: 010-59194081; E-mail: yejiming@agri.gov.cn

基金项目: 环保公益行业科研专项 (NO. 200709039).

最新生态风险评价程序中将生态风险评价过程分为 3 个主要阶段, 即问题表述、问题分析和风险表征^[3]。而陆生生物的生态风险评价规程则由美国生态委员会生态风险评价陆生生物工作组 (The Ecological Committee on FIFRA Risk Assessment Methods Terrestrial Work Group) 在 1997 年的工作报告中提出, 共包括问题表述、饮食途径暴露和效应评价、风险表征几个部分。目前 USEPA 主要是通过急性接触毒性试验 (LD_{50} 值) 来估计农药施用 时药液与蜜蜂身体直接接触的毒性危害, 同时通过叶面暴露试验估计蜜蜂直接摄取或暴露于叶面残留农药时的致死效应。

农药对蜜蜂的风险评价主要包括以下 3 个过程: ①农药对蜜蜂的危害分析: 确定危害存在与否, 制定风险分析计划。②农药对蜜蜂的风险分析与估算: 农药自身的毒性, 通常用 LD_{50} 值来表示; 确定农药暴露浓度, 估算产生危害影响的剂量水平。③风险表征: 表征一种农药对蜜蜂的影响。如果生态系统中各种浓度下的暴露均不会引起危害, 则认为这种农药不会对蜜蜂造成有害影响; 如果怀疑或已经产生了危害, 则需进行田间风险评价, 以便进一步了解风险并将其降低到可以接受的水平 (图 1)。

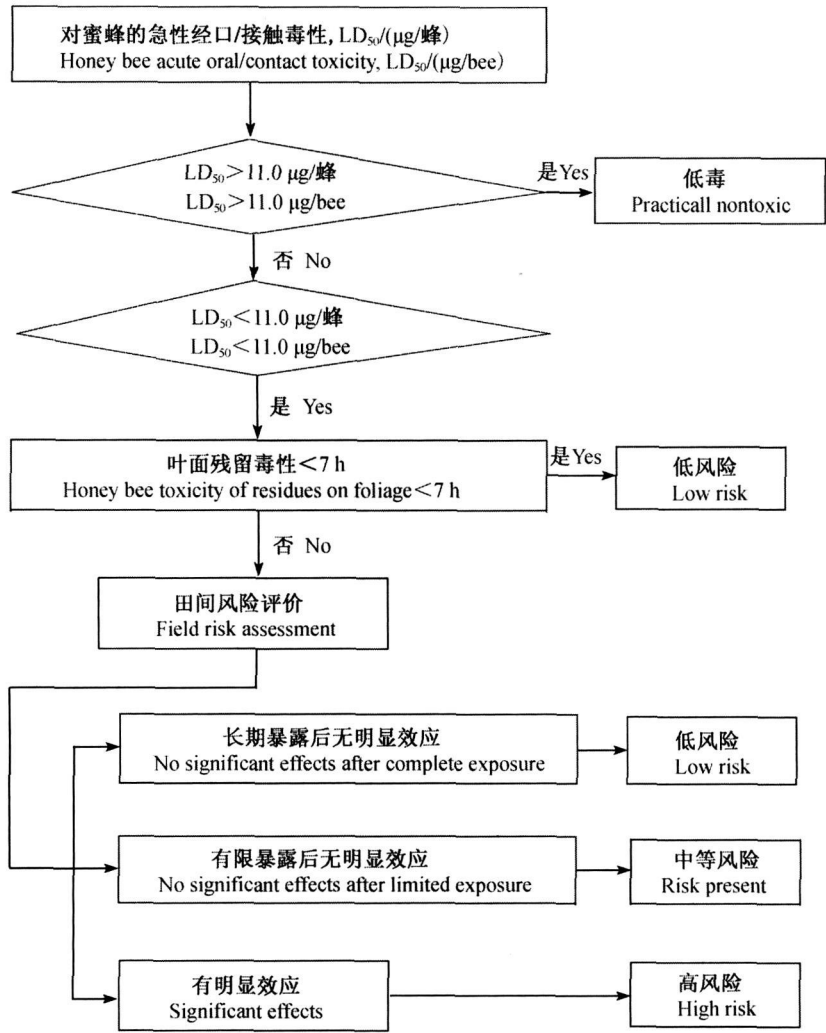


图 1 农药对蜜蜂影响的风险评价决策树

Fig 1 Decision tree of risk assessment of pesticides on honey bee

2 农药对蜜蜂的急性毒性研究——初级风险评价

主要指农药本身的毒性,通常用急性毒性半致死剂量 LD_{50} 值(单位为 $\mu\text{g}/\text{蜂}$)来表示^[4]。

2.1 急性接触毒性试验方法

美国环保局农药及有毒物质预防办公室(Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances USEPA OPPTS)于1996年8月颁布了测定农药及其他有毒物质对蜜蜂的急性接触毒性试验准则^[5],该准则是OPPTS基于农药项目办公室(Office of Pesticide Programs OPP)农药评价导则中的非靶标昆虫蜜蜂急性接触毒性试验导则制定的,并通过了美国实验室标准方法测试。

试验在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、相对湿度65%~75%及微光条件下进行。正式试验时农药剂量水平应该已经确定,如尚未确定则需要先做预试验。供试蜜蜂必须直接从蜂箱或保育箱中取出(一般采用意大利成年工蜂 *Apis mellifera* L,要求健康、蜂龄一致),以 N_2 或 CO_2 麻醉,并随机分配在各个不同浓度水平和对照组笼中,每组至少25只蜂。将蜜蜂再次麻醉后,利用微量点滴器局部点滴单一剂量经溶剂溶解后的待测农药。试验期间采用以纯净水或蒸馏水溶解的50%糖水饲喂蜜蜂。在给药4 h后观察,并记录受试蜜蜂的中毒症状,记录24和48 h时蜂的死亡数。对数据进行统计分析,求出蜜蜂的48 h LC_{50} 值及95%置信限,对照实验的死亡率不得大于20%^[6]。

目前美国只有农药对蜜蜂的急性接触毒性试验准则,尚无急性经口毒性试验准则。国际经济合作发展组织(OECD)于1998年颁布了关于农药等有毒化学品对蜜蜂的急性经口、接触毒性试验准则(化学品测试准则 Na 213 214)^[7,8]。我国有关农药对蜜蜂的急性毒性试验准则也包括经口毒性和接触毒性两方面^[9]。

2.2 评价标准

目前USEPA关于农药对蜜蜂的毒性评价等级共分为3级: $LD_{50} < 2.00 \mu\text{g}/\text{蜂}$ 的为高毒农药; $2.00 \mu\text{g}/\text{蜂} \leq LD_{50} \leq 11.0 \mu\text{g}/\text{蜂}$ 的为中毒农药; $LD_{50} > 11.0 \mu\text{g}/\text{蜂}$ 的为低毒农药^[10]。先据此标准就农药对蜜蜂的风险做出初步评价,当急性毒性测试结果表明农药的 $LD_{50} < 11.0 \mu\text{g}/\text{蜂}$,室内的研究并不能确定农药在正常使用情况下是否会对蜜蜂呈现不利影响时,就需要进行较高层次的半

田间和田间试验研究^[11]。

美国早已把农药对蜜蜂的风险评价纳入农药登记程序中。如2,4-D的登记材料中,按急性接触毒性试验准则测得2,4-D的两种存在形式(2,4-D DMAS和2,4-D EHE)对蜜蜂的 LD_{50} 值均大于 $100 \mu\text{g}/\text{蜂}$,对蜜蜂为低毒,则不需要进行再高层次的评价^[12]。

欧洲和地中海植物保护组织(EPPO)^[2]则利用田间施药量(有效剂量, g/hm^2)与 LD_{50} 值($LD_{50-\text{ora}}$ 或 $LD_{50-\text{contact}}$)的比值,即“危害商值”HQ(Hazard Quotient)来确定风险的高低,也分为3级:HQ < 50时,农药对蜜蜂为低风险;HQ在50~2 500时为中等风险;HQ > 2 500时为高风险。美国的毒性分级标准及评价预测模型对于蜜蜂的初级风险评价并未考虑田间用药量的影响,而EPPO的商值法则考虑到了田间用药量的影响,但两个评价体系都是在保守假设的情况下进行的,因此都属于初层次的评价。

3 半田间风险研究——叶面残留农药对蜜蜂的影响评价^[13]

叶面残留毒性试验是指对喷洒农药后的植物定期采样,对蜜蜂进行暴露处理,确定在自然条件下残留在叶面上的农药对蜜蜂的危害,是一种半田间试验^[14]。

叶面残留毒性试验由USEPA OPPTS开发并应用于农药生态风险评价,其他相关组织如OECD、EPPO等则没有类似的导则^[2]。欧洲只有个别关于叶面残留农药生态风险研究的报道,如Bakker和Tomier等通过半田间试验研究发现,叶面残留农药对蜜蜂的死亡率、觅食行为、繁殖等都有不同程度的影响^[15,16]。

3.1 试验方法

待测农药以推荐浓度施用于受试农作物(首选为紫花苜蓿 *Medicago sativa* L),以预定的时间间隔收割处理区和对照区的叶片,磨碎后对蜜蜂进行暴露处理。在暴露期间进行监测,记录受试蜜蜂的中毒症状及24 h蜂的死亡数、暴露4 h和试验结束后的死亡率、死亡剂量水平和发生时间。在试验结束之前,实验观察不得对蜜蜂造成干扰,无需将死亡蜜蜂从实验笼中移出。

试验在室内进行。供试蜜蜂也必须直接来源于蜂箱或者保育箱中,养蜂环境条件必须适宜。

选择健康状况良好的 1~7 日龄工蜂, 不需驯化, 随机分配到各处理组和对照组, 以 50% 的糖水饲喂。

将蜜蜂置于用金属、塑料、金属丝网、纸板或者上述材料共同组合构造的实验笼中, 笼中附有装糖水的小瓶。试验过程需控制光和其他环境变量, 温度保持在 25~35℃, 相对湿度在 50%~80%, 除给药和观察期间, 供试蜜蜂需保持在黑暗条件下。在饲养和试验期间, 应避免蜜蜂过分活跃或受到其他干扰。

3.2 评价方法

叶面农药残留毒性试验结果报告了每个浓度组和对照组蜜蜂的中毒症状和异常行为, 包括发作时间、持续时间、激烈程度和死亡率, 表明蜜蜂是否由于暴露于叶片上残留的农药而致死。当叶片上的农药残留毒性 < 7 h (施药 7 h 后, 叶面残留农药不会对蜜蜂产生急性毒性影响) 则为低风险, 反之, 当叶片上的农药残留毒性 > 7 h 则表明该农药对蜜蜂显示出高风险, 需要进行下一步的田间风险评价研究^[17]。

Cheryl 等^[18]的研究表明, 以两种不同浓度的多杀菌素 (spinosad NAF-315 剂型) 处理紫花苜蓿, 在施用农药 3 h 后及更长时间采集叶片对蜜蜂进行暴露处理, 发现均未使蜂致死。Villa 等^[19]则通过蜜蜂对花粉中残留农药的暴露来评价农药对蜜蜂的风险, 这也是一种半田间的方法, 可以用来确定在花期施用农药后花粉中残留农药对蜜蜂的风险。这种方法可以比较直观地得出结论, 但与 USEPA 的叶面残留毒性试验方法相比, 其适用性较差, 只能通过花粉这种特殊的暴露途径来进行。

4 田间风险研究

蜜蜂的田间风险评价试验 (field testing for pollinators) 和陆生生物田间风险评价试验 (field testing for terrestrial wildlife) 两个试验准则都是应“联邦杀虫剂、杀真菌剂及灭鼠剂法 (FIFRA)”的要求建立的^[20], 其目的在于评价在野外环境下农药对非靶标陆生生物的危害风险。

田间风险研究的目的在于评价农药在实际使用时可能带来的风险。如果叶面残留毒性试验结果表明农药对蜜蜂可能产生不利影响, 则需要开展田间风险评价研究^[14]。田间风险评价是风险评价的最高层次, 研究内容复杂且所需经费较高, 影响的因素也较多, 如农药的化学行为模式、施用方

法、作物的种类及蜜蜂种群多样性等, 因而使得方案的制定比较困难^[21]。尽管田间研究的不确定性较多, 但是大部分田间试验的关键因素仍是可以确定的。

4.1 田间风险研究方法

4.1.1 试验地区的选择、研究点的确定及设计

选择用于评价农药对野生生物危害风险的地理学区域是比较困难的。为达到研究的目的, 应保证研究地区的数量并遵循最大风险化的原则, 如果在此条件下表征得到的风险值很低, 则能够合理地推断出在其他地区的风险也会比较低。

田间风险试验中, 在每个试验区域选择合适的研究点也很重要。按照最大风险化的原则, 研究点应该设在处于最高风险点的位置。此外, 研究点还需足够大以保证提供充分的样本, 其大小取决于农药的施用方法和物种的密度、多样性及其活动范围。其他需要考虑的因素还有各研究点之间的距离, 相互之间须有足够的距离以保证各自独立。

4.1.2 农药处理 待测农药必须是典型的最终使用的产品 (typical end-use product TEP)。在大部分情况下, 是将农药按指定的最大推荐用量对所选定的区域进行施药处理。同时, 施药的设备、方式也可能对暴露其中的非靶标生物存在潜在的影响, 因此也应分析施药设备及方式所引起的风险。

4.1.3 受试生物 试验应针对被关注的物种进行。在美国有经济价值的授粉者主要包括: 蜜蜂 *Apis mellifera* L、紫花苜蓿切叶蜂 *Megachile rotundata*、碱性蜂 *Nomia melanderi*。

4.1.4 试验原则 田间风险试验应该模拟实际施用农药时的真实情况进行, 特别是需根据推荐的使用频率、使用剂量及方法施药。在多数情况下, 杀虫剂应按最大推荐用量进行试验。

4.1.5 死亡率的估计 在实际研究中, 应采用多种不同类型的蜜蜂死亡率估算装置 (死亡收集器) 来估算蜜蜂的死亡率^[22]。如在杀虫剂对蜜蜂的风险评价中, 常用的死亡率估算装置是“Todd-Trap” (Trap 即收集死亡蜜蜂的装置)^[23]和“Modified-Gary-Trap”^[24], 其他比较常用的死亡率估算装置还有“Underbasket-Trap”^[25]和“Original-Gary-Trap”。Sproule 等^[26]比较了“Todd-Trap”和“Modified-Gary-Trap”这两种方法, 发现“Modified-Gary-Trap”造成假死率比较高, 而“Todd-Trap”能

够直接准确地估计死亡率。Cheryl等^[18]在评价农药在田间喷施后对蜜蜂的影响时也是利用“Todd-Trap”来估计蜜蜂的死亡率。

Illes等^[27]曾比较了3种不同的蜜蜂死亡率估算装置,并开发出了一种新型的估算装置“Muenster-Trap”,研究表明,“Muenster-Trap”在收集死亡的蜜蜂时非常有效,避免假死且受蜜蜂的行为干扰最小,适用于农药对蜜蜂的风险评价。

4.1.6 补充试验 每项田间研究都至少还需有几种补充试验方法,这些试验对于确定效应是否存在及效应的性质不可缺少。补充试验虽然不能直接反映危害效应,但可以为解释研究结果提供重要信息。如酶的分析、毒性症状的观察等可以表明野生生物是否暴露于特定的农药中。为明确野生生物是否暴露于其他农药,对其进行残留分析也是必需的,几乎在每个田间试验研究中都需要进行环境残留分析。环境残留分析可直接针对所关注的物种或者外推物种进行,具体取决于农药的种类和使用程度、现有的基本毒性数据及物种的活动范围等因素。如果所关注的物种不能直接进行研究,则需利用物种间在毒性敏感性、生态学等参数方面的种间差异进行外推。外推也可应用于繁殖损伤和慢性毒性的研究。

Thompon等^[28]在研究农药对大黄蜂 *Bombus* sp 的毒性及暴露风险时,即是通过荧光标记的方法先测得农药在实际应用中在蜜蜂体内的残留量,并得出剂量毒力效应数量关系 ($dose/toxicity, D/T$),如顺式氯氰菊酯以有效剂量 15 g/lm^2 在田间施用后在大黄蜂中的残留量为 35 ng/蜂 ($D/T: 0.22$),在蜜蜂中的残留量为 13.5 ng/蜂 ($D/T: 0.45$),对两种蜂均为高毒,由于大黄蜂的毒性及残留暴露试验数据较少,则由蜜蜂相关的数据外推得到该农药对大黄蜂的毒性及暴露风险。

4.2 试验方案的建立

Ripley在野生生物管理手册中提出了野生生物管理调查方案^[29],USEPA OPPTS在制定野生生物的风险评价时应用了该方案。田间风险试验方案是在总结农药的室内试验数据、农药自身性质及应用情况等各方面的内容后最终制定的一个可行的方案。

4.2.1 问题表述 包括该农药可能对非靶标陆生生物产生危害的一系列相关资料,如农药对蜜蜂的毒性、农药的使用情况、防治对象、登记作物等。明确研究的目的和用途,并就农药对蜜蜂的

危害影响作简要的声明,说明试验的局限性,描述试验的相关场景情况。

4.2.2 方法和材料介绍 简要讨论各种可用于该风险评价的方法,明确各种方法的优缺点。确定研究区域的选择标准,简要说明研究程序、采样计划等,详细说明需要搜集的数据资料类型及总量,详细描述所用数据的来源,包括应用程序、使用仪器、采样设备及程序资料、记录质量保证程序等,说明检验程序灵敏性和准确性的方法、数据处理方法、使用的预测模型、预期的结果。

4.3 质量控制

准确描述可能影响数据资料质量或者完整性的所有环境条件。室内的急性毒性试验应严格遵守“良好实验室准则 (good laboratory practices, GLP)”以保证实验数据的质量,所给出的评价结论和研究结果应可以检测、重复。

4.4 评价

对田间试验数据进行总结和分析,把受试物质与参比物质(参比物质为已确定对蜜蜂安全的某种物质,一般以水为参比物质)引起蜜蜂死亡率的数据进行统计学上的对比,明确是否存在统计学上的差异,如果有明显的差异,则表明对蜜蜂会产生危害影响。

虽然USEPA曾期望从整个田间试验结果准确地外推出农药的危险程度,但由于目前田间试验尚缺乏统一的标准,因此暂时还不太可能实现。

5 小结

目前我国在农药对蜜蜂的风险评价方面主要是根据其急性毒性试验来进行较为初级的评价,尚未建立起半田间及田间实验准则。USEPA的农药对蜜蜂的风险评价程序是一个从实验室到田间、从保守估算到接近实际,从简单到复杂、从初级到高级逐步推进的相对完善的技术体系,对我国建立农药对陆生生物的风险评价程序是很好的可借鉴的模式。

参考文献:

- [1] LIXU-tao(李旭涛). 农药对蜜蜂生态环境的影响及保护对策[J]. Agricultural Science and Technology (养蜂科技), 2005 (1): 16-19
- [2] European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO). Environmental Risk Assessment Scheme for Plant

- Protection Products[J]. OEPP/EPPO Bulletin, 2003, (33): 141-145
- [3] U. S. Environmental Protection Agency (USEPA). Guidelines for Ecological Risk Assessment Framework for Ecological Risk Assessment[R]. Washington, DC, USEPA, 1998.
- [4] Ecological Committee on FIFRA Risk Assessment Methods (ECOFRAM). Terrestrial Work Group Report IV Effects Assessment [R]. Washington DC, USA, 1999
- [5] U. S. Environmental Protection Agency Office of Prevention Pesticides and Toxic Substances (USEPA OPPTS). Series 850- Ecological Effects Test Guidelines [R]. Washington, DC, USA, 1996.
- [6] U. S. Environmental Protection Agency Office of Pesticides and Toxic Substances (USEPA, OPPTS). Ecological Effects Test Guidelines 850-3020 Honey Bee Acute Contact Toxicity [R]. Washington, DC, USA, 1996.
- [7] Organization of Economic Cooperation and Development (OECD). No 213 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Honey Bees Acute Oral Toxicity Test [S]. Paris France, 1998-09-21.
- [8] Organization of Economic Cooperation and Development (OECD). No 214 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Honey Bees Acute Contact Toxicity Test [S]. Paris France, 1998-09-21.
- [9] The People's Republic of China Ministry of Agriculture (中华人民共和国农业部). Pesticide Registration Requirements (农药登记资料规定, 第十号令) [Z]. China (中国), 2007.
- [10] U. S. Environmental Protection Agency (USEPA). Technical Overview of Ecological Risk Assessment [R/OL]. [2008-05-09]. http://www.epa.gov/pesticides/regulating/studyprofile_templates/studyprofile_template_list.htm#enveffects
- [11] CLEVELAND C B, CRYER S, HAVENS P L. Ecorisk Calculator Project User's Manual Version 1.0 [Z]. Dow Agrosciences, 1997.
- [12] CORBIN M, EVANS W, HETRICK J. Environmental Fate and Effects Division's Risk Assessment for the Reregistration Eligibility Document for 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) [R]. Washington DC, USEPA, 2004.
- [13] U. S. Environmental Protection Agency Office of Pesticides and Toxic Substances (USEPA, OPPTS). Ecological Effects Test Guidelines 850-3030 Honey Bee Toxicity of Residues on Foliage [R]. Washington DC, USEPA, 1996.
- [14] U. S. Environmental Protection Agency (USEPA). Guidelines for Ecological Risk Assessment Ecological Risk Assessment Technical Overview Ecological Effects Studies Needed [R]. Washington, DC, U.S., 1998
- [15] BAKKER F, CALIS J A. Semi-field Approach to Testing Effects of Fresh or Aged Pesticide Residues on Bees in Multiple Test Designs [J]. Bulletin of Insectology, 2003, 56 (1): 97-102
- [16] TORNIER I, KLING A, SCHUR A. Honey Bee Testing in Southern Europe from the Laboratory to the Relevant Crop in the Field [J]. Bulletin of Insectology, 2003, 56 (1): 185-187
- [17] LI Yu-suo (林玉锁). Techniques and Methods of Environmental Risk Assessment (环境风险评价实用技术和方法) [M]. Beijing (北京): China Environmental Science Press (中国环境科学出版社), 2006: 325.
- [18] CHERYL B, MAYES M, CRYER S. An Ecological Risk Assessment for Spinosad Use on Cotton [J]. Pest Management Science, 2000, (58): 70-84.
- [19] VILLA S, VIGHI M, FINZI A. Risk Assessment for Honey Bees from Pesticide-exposed Pollen [J]. Ecotoxicology, 2000 (9): 287-297.
- [20] U. S. Environmental Protection Agency Office of Pesticides and Toxic Substances (USEPA, OPPTS). Ecological Effects Test Guidelines 850-3040 Field Testing for Pollinators [R]. Washington DC, USEPA, 1999.
- [21] U. S. Environmental Protection Agency Office of Pesticides and Toxic Substances (USEPA, OPPTS). Ecological Effects Test Guidelines 850-2500 Field Testing for Terrestrial Wildlife [R]. Washington, DC, USEPA, 1999.
- [22] European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO). Guideline on Test Methods for Evaluating the Side-effects of Plant Protection Products on Honey Bees [R]. EPPO, Bulletin, 1992, (22): 203-215
- [23] ATKINSE L, TODD F E, ERSON L D. Honey Bee Field Research Aided by Todd Dead Bee Hive Entrance Trap [J]. Calif Agric, 1970 (24): 12-13.
- [24] GARY N E. A Trap to Quantitatively Recover Dead and Abnormal Bees from the Hive [J]. Econ. Entomol, 1960, 53: 782-785.
- [25] ACCORTIM, TARDUCCI F. Methods for Collecting Data on Natural Mortality in Bee [J]. Ethol Ecol Evol, 1991, (1): 123-126
- [26] SROULE J, CUTLER G C, SCOTT C D. An Observational Study Evaluating Different Methods of Assessing Honey Bee Mortality [R]. The Entomological Society of Ontario 42nd Annual Meeting, 2005.
- [27] ILLES I, MÜHLENW, DUCKER G. The Influence of Different Bee Traps on Undertaking Behaviour of the Honey Bee (*Apis mellifera*) and Development of a New Trap [J]. Apidologie, 2002 (33): 315-326.
- [28] THOMPSON H. Assessing the Exposure and Toxicity of Pesticides to Bumblebees (*Bombus* sp.) [J]. Apidologie, 2001 (32): 305-321.
- [29] RIPLEY T H. Planning Wildlife Management Investigations and Projects [J]. Wildlife Management Techniques Manual, The Wildlife Society, 1980: 1-6.

(Ed TANG J)