

國立台灣大學農藝系四年級  
專 題 討 論

蜜蜂消失後的世界:農藥對於蜜蜂的影響

**A World Without Bees:**

**The impact of pesticides to honey bees.**

主講學生：陳品宏

指導教授：蔡政安 老師

時間：2012 年 04 月 12 日 上午 11：30

地點：農藝系館 112R

## 摘要(Abstract)

**背景:**蜜蜂是植物成功授粉相當重要的關鍵因子，然而最近發現蜂群有失調衰竭(Colony Collapse Disorder (CCD))的現象，使得全球蜜蜂的數量急遽減少。

**內容:**近年來，全世界藉由蜜蜂授粉的植物，其授粉成功的機率明顯降低，然而由於現代農業大量使用農藥造成蜜蜂數量大規模下降為其原因之一。藉由分析蜜蜂所採集的花粉，其中含有類尼古丁 (Neonicotinoid) 的成分，對蜜蜂來說這是劇毒的物質。使用類尼古丁 (Neonicotinoid) 殺蟲劑處理過的玉米所生產的花粉，並利用LC / MS-MS(<http://instrument.kmu.edu.tw/no5.htm>)儀器分析蜜蜂採集到的花粉，觀察蜜蜂花粉利用的途徑，發現蜜蜂在採集花粉的過程中將會接觸到這些化合物和農用殺蟲劑。在植物生長的季節，觀測經過殺蟲劑處理的玉米種子會殘留相當多可尼丁(clothianidin)和賽速安(thiamethoxam)，甚至在沒有進行耕種的土壤中也發現類尼古丁

(Neonicotinoid) 的成分，而這些物質是藉由採集花粉的蜜蜂或是會隨風飄散的種子(蒲公英)擴散，這表示類尼古丁 (Neonicotinoid) 不僅僅由根部所吸收，也會累積在花的部分。檢測在蜂窩附近死亡的蜜蜂樣本發現死亡的蜜蜂同樣含有可尼丁(clothianidin)的成分，檢測蜂窩中的花粉也可以測出可尼丁(clothianidin)的成分，但我們無法判斷蜜蜂的死亡是因為服用了殺蟲劑處理過的種子成長生成的花粉，還是直接接觸到當初噴灑的殺蟲劑。如此我們必須探究類尼古丁 (Neonicotinoid) 殺蟲劑是否會經由植物的生長而持續殘留在植物的體內，而對蜜蜂造成極大的傷害。

**結論:**這項研究首次證明蜜蜂暴露在農藥殘留物中將導致亞致死效應(sub-lethal effects)。亞致死效應，包括間接影響延遲幼蟲發育、延遲成蟲羽化以及壽命縮短。此外，若是延遲效應時間較長的話可能會使得蜜蜂的寄生蟲-蜂蟹蟎 (Varroa destructor) 具有生殖優勢，而危害蜂群。

## 前言(Introduction)

蜜蜂族群減少的問題日益受到重視，因為許多作物和藉由蜜蜂授粉有相當大的關聯[1-3]，美國農業依賴蜜蜂授粉的產值約為14億美元 [1-2]，需要蜜蜂授粉的作物如蘋果、杏仁、藍莓、紅莓……我們所吃的食物有三分之一是藉由蜜蜂授粉[5]，雖然影響蜜蜂族群減少的原因有許多說法(包括病毒、寄生蟲、蜜蜂氣管蟎 (Acarapis woodi)、農藥和殺蟲劑)[4]，2006年發現蜜蜂失調衰竭(Colony Collapse Disorder (CCD))的現象，目前造成蜜蜂失調衰竭(Colony Collapse Disorder (CCD))的因子已經歸納為寄生蟲-蜂蟹蟎 (Varroa destructor)、營養不良、其他害蟲、病原體[2]和接觸農藥。尤其蜜蜂屬於社會群聚型動物，有明確的分工行為，因此若是某個部分(工蜂)出現問題，則將會影響整個族群的衰減。目前蜜蜂與暴露在農藥殘留物引起蜂群的變化則是現在美國對於蜂群減少所探討最主要的部分，特別是類尼古丁 (Neonicotinoid) 殺蟲劑[3, 4, 5]，這類化合物可刺激昆蟲體內乙醯膽鹼(Acetylcholine)的受體，使之維持亢奮的狀態，而乙醯膽鹼是神經傳導的物質，被類尼古丁 (Neonicotinoid) 物質破壞後導致昆蟲死亡[7]。而類尼古丁 (Neonicotinoid) 物質之所以作為殺蟲劑有幾項特點，其一為對脊

椎動物的毒性低[8]，而且適合大面積的施用。同時類尼古丁 (Neonicotinoid) 物質的藥效也相當持久，即使在有氧的土壤中，這類化合物的半衰期還可以長達好幾個月。因此美國將這類化合物運用在可作為糧食、飼料和乙醇的玉米上，2010年時美國玉米的栽培面積達到3570萬公頃，由於希望增加產量，因此幾乎所有的玉米種子都以類尼古丁 (Neonicotinoid) 物質處理過(除了有機栽培的0.2%外[9])。

類尼古丁 (Neonicotinoid) 的主要成分為：可尼丁(clothianidin)和賽速安(thiamethoxam)。目前殺蟲劑的使用濃度為0.25至1.25 mg/kernel，但是蜜蜂的LD50(此濃度能殺死50%的蜜蜂族群)只能容許22-44 ng/kernel[8, 10]。這項研究是2010年春季印第安那州的養蜂場報告，這份報告指出該區玉米種植高峰期[11]時，蜂箱內的蜂蜜和花粉都含有可尼丁(clothianidin)和賽速安(thiamethoxam)成分，初步的結果促進更多實驗去研究蜜蜂是如何暴露在殺蟲劑的環境下，或是如何接觸這些有毒物質。同時也以農藥(atrazine)作比較，藉由這些研究希望可以遏止蜜蜂族群持續下降的風險並且減少蜂群的損失(Fig. 0)。

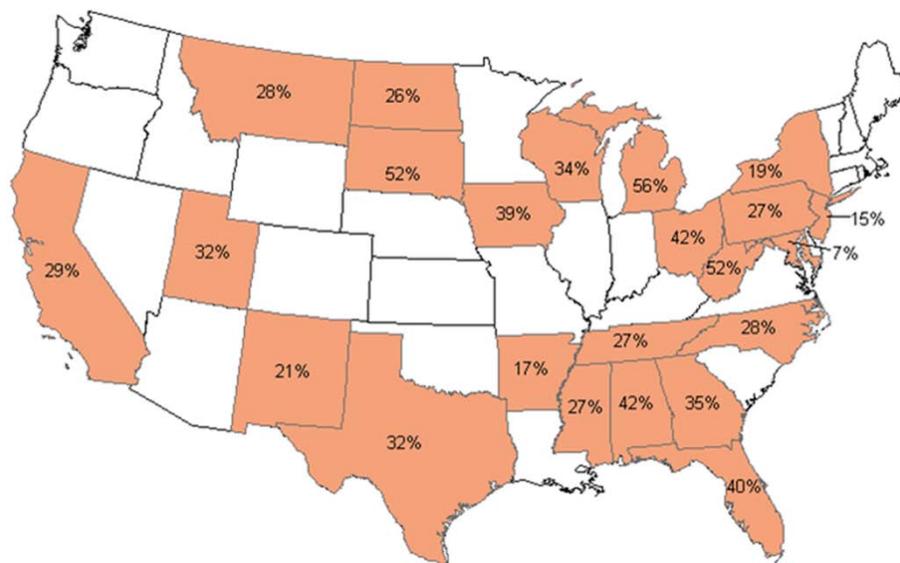


Figure 0. Total colony loss (%) by state.

各州蜂群減少情形

## 材料和方法 (Materials and Methods)

### 實驗育蜂梳 (Experimental combs)

使用殺蟎劑處理養蜂框架達到殺蟎目的方法源於美國農業部西北太平洋的蜜蜂實驗室養蜂試驗。將育蜂梳樣本和13個養蜂架進行正相關的高濃度農藥殘留分析，並分切成處理組的領域(11x11-cm)，其中大約有450隻蜜蜂幼蟲。再以新劃分未經農藥處理的育蜂梳做為控制組，以觀測經農藥殘留物污染的負面效應。

### 實驗設計 (Experimental design)

將養蜂架內約22x11-cm面積移除，以放置育蜂梳，每一片育蜂梳的農藥殘留量都不同，未含農藥的稱為控制組，而含農藥的稱為處理組，處理組從農藥濃度低至濃度高進行排列，其中養殖3個蜜蜂族群，養殖時間為2008年的五月至2009年的八月進行試驗。

控制組和處理組的育蜂梳內使用相同蜜蜂族群，同樣的環境因子及餵食相同的食物，以減少變因。將同樣親代的蜂后置入育蜂梳中，並使其可以任意穿梭控制組和處理組。一天之後再將蜂后從育蜂梳中移出，育蜂梳中經計算後擁有224個蜂卵，並且將這些卵以儀器監測並且拍攝，數量過多的部分則予以移除。在第4、8、12、19天時監測蜂卵的孵育以及幼蟲的死亡率與生長情況，拍攝後以Microsoft Paint 2007處理，在 $33\pm 1^{\circ}\text{C}$ 的環境中蜂蛹會在第19天時羽化。當成年蜂出現後必須每天記錄、計算，並且將蜜蜂標籤後置入3.2厘米的金屬籠子(11×9×5-cm)，在籠子中蜜蜂依然分控制組和處理組飼養，工蜂皆餵食水、蔗糖糖漿、花粉並且記錄每日死亡情形。部分養蜂架內的育蜂梳在實驗中重複使用三次，而養蜂架內包括某些未使用的育蜂梳和已經完成養育週期的育蜂梳(Rep 1)，為的是減少季節性覓食行為和溫度差異改變幼蟲的死亡存活率(Rep 2 & 3)。這個實驗從2008年五月至2009年八月，一共完成了28次的樣本採集。

### 統計分析(Statistical analysis)

將未含農藥殘留物的育蜂梳和含有高濃度農藥殘留物的育蜂梳中的幼蟲死亡率、成蟲壽命、成蟲羽化率和工蜂的飼養進行成對比較，並且比對兩者蜜蜂的生命週期(4、8、12和19天)以及育蜂週期(Rep 1, 2, 3)。比較多次重覆實驗後，實驗前後控制組和處理組的農藥殘留物濃度。

### 測量(Measurements)

評估暴露於農藥殘留物質所產生的亞致死效應(sub-lethal effects)，並以蜜蜂整個生命週期的重要階段進行生物學上的判斷。蜂卵孵化為第4天，幼蟲到準備化蛹的時間為第8天，而在第12天時完成化蛹，第19天時羽化成蜜蜂成蟲，此紀錄將持續紀錄直到蛹無法再羽化成成蟲而且籠子內的蜜蜂全數死亡為止。並且將病蟲害感染以及異常發育的幼蟲一同觀察紀錄，將以上生物學的紀錄與含有農藥殘留物的蜂群比對，對育蜂梳中農藥殘留物所引起的亞致死效應(sub-lethal effects)的影響進行評估。

## 結果(Results)

### 育蜂梳的化學分析(Chemical analysis of brood combs)

從育蜂梳進行分析，全部的農藥殘留物總共為39種，包括7種殺菌劑、2種除草劑、23種殺蟲劑和7種農藥代謝產物(Table 1)，而處理組的育蜂梳上發現其農藥殘留物質約有4至17種，平均值為10種。在處理組的育蜂梳上最常被檢測到的三種農藥殘留為殺蟎劑-氟胺氰菊酯(miticides fluvalinate)、蠅毒磷(coumaphos)及蠅毒磷的代謝產物(OXON)。氟胺氰菊酯(miticides fluvalinate)為菊酯類農藥，處理組育蜂梳上含有24,340 ppb的高濃度；蠅毒磷(coumaphos)和其代謝產物(OXON)含有濃度為22,100 ppb和3,140 ppb，平均值為8,079 ppb和596 ppb，而且蠅毒磷(coumaphos)是控制組育蜂梳中唯一發現的農藥殘留物(21 ppb)。

## 育蜂梳的影響(Brood effects)

在受到管理的育蜂梳中(沒有農藥殘留物)，蜜蜂幼蟲的總死亡率沒有顯著差異(26%和33%， $P=0.059$ ) (Fig. 1)，但是在另外4個含有高濃度農藥的育蜂梳中則有明顯的延遲生長，並且有蜜蜂衰竭失調(Colony Collapse Disorder (CCD))的現象(Fig. 2A - C)。

受到管理的育蜂梳中幼蟲的生命階段可以顯著的分為第4天( $P=0.0243$ )、第8天( $P=0.0005$ )、12天( $P=0.0001$ )和19天(Fig. 2A)。相較之下，在含有農藥殘留的育蜂梳中其第4天和第八天的生命階段卻不顯著，幼蟲大多依然為早期幼蟲階段(Fig. 2B)，幼蟲生長階段有明顯的延遲。

將此實驗重複多次將可以發現處理組上農藥殘留物有遷移到控制組的現象，使得控制組和處理組的農藥殘留濃度趨於平衡。在控制組育蜂梳中的蜂群死亡率也在實驗重複多次後有明顯提升的趨勢(Fig. 3):在第一次重複實驗時，控制組中的幼蟲死亡率為13%，到了第二次重複實驗時死亡率卻攀升至28%，到了第三次重複更高達39%。第三次重複實驗幼蟲的死亡率顯著高於第一、第二次實驗( $p = 0.023$ ;  $p = 0.048$ , respectively)；反觀處理組，從第一次死亡率為17%，第二次為37%到了第三次死亡率只剩22%，有顯著減少的趨勢( $p = 0.013$ )。

## 育蜂梳的化學分析(Chemical analysis of comb after multiple brood cycles)

化學分析比較中，分析五對(10個樣本)控制組和處理組實驗前和實驗後的育蜂梳，發現有3個種類的農藥殘留物發生相互污染的現象。後來再增進4個控制組育蜂梳，比較實驗前後農藥殘留與處理組的差異(Fig. 4)，控制組的農藥濃度和種類也在實驗重複後增加，處理組的則是減少，農藥殘留物從高濃度的地方往低濃度的地方轉移，進而達成平衡，但其中三種最常被檢測到的殺蟲劑物質(氟胺氰菊酯(fluvalinate)、蠅毒磷(coumaphos)及蠅毒磷的代謝產物(OXON))經重複實驗後也從處理組污染到控制組。控制組的氟胺氰菊酯(fluvalinate)、蠅毒磷(coumaphos)及含量在實驗之後顯著提升( $p<0.025$ ;  $p<0.01$ ; respectively)，其中高濃度的農藥代謝物(蠅毒磷的代謝產物(OXON)) ( $p<0.025$ ; respectively)也在實驗後轉移到控制組，而處理組中氟胺氰菊酯(fluvalinate)的濃度在實驗後顯著降低( $p<0.025$ )，在實驗後控制組中新發現的農藥殘留物與處理組的相互消長(Table 2)。殺菌劑是處理組中唯一在實驗之後濃度增加的，但是其增加的量相當稀少，不具有統計學中的顯著性(平均只有280 ppb)。這些結果表示在活動的蜂群中，農藥殘留物藉由蜂蠟或穿過育蜂梳表面快速擴散。

## 成蟲羽化和壽命(Adult emergence and longevity)

飼養在未經農藥污染的育蜂梳中的工蜂，其壽命較經過暴露於農藥殘留物的多4天 (Fig. 5,  $p = 0.005$ )，控制組的羽化時間也受到多次重複實驗而有延遲的趨勢 (Fig. 6A - C)。在第一次重複實驗中，控制組中蜂蛹羽化成蜜蜂時間顯著集中在第20、21天 (42% 和 53%)，到了22天只剩下5% ( $p < 0.0007$ )；相較之下，當實驗重複製到三次時，第22天時還有18%的羽化比例，相較於第一次重複實驗時的5%明顯高出許多，此外，在第20天時只有2%的蜜蜂羽化成功，相較於第一次的42%下降許多，第三次重複時羽化集中在第21天 (80%) (Fig. 6A - C)。因為重複實驗造成的農藥殘留物污染使得工蜂的羽化從本來集中在第20-21天到後來集中在第21-22天，這些資料顯示工蜂的生命週期經由重複實驗導致農藥殘留物擴散而有延遲的現象。

## 討論(Discussion)

蜜蜂的所有生理階段都容易受到農藥影響 [13]，成年的蜜蜂可能在飛行、覓食和採集花粉的時候受到暴露在含有農藥的環境中，而新生的幼蜂則可能接觸到受污染的花粉和花蜜而被農藥影響。同時也可能暴露在養蜂人在蜂巢內施放用來控制外部寄生蟲-瓦析構蟎 (*Varroa destructor* mites) 的殺蟎劑中，不論是蛹的羽化、卵、幼蟲的生長皆有可能在育蜂梳的表面或是食物中接觸到農藥，甚至蜂后也可能藉由受到污染的蜂蜜、蜂蠟和花粉而暴露在高濃度的農藥之中。因為接觸農藥而導致的亞致死效應 (sub-lethal effects) 會減少蜂后的產卵量、增加蜂后對於蜂巢的排斥效應和減輕蜂后卵巢的重量 [15, 16]。

在這項研究中，飼養在受到高濃度農藥污染的育蜂梳上的工蜂其存活率相較於未經污染的育蜂梳來的低，而且蜂群的死亡率在重複實驗後的控制組育蜂梳會較上重複實驗的控制組高，而且實驗後的控制組因為生命週期延遲的關係，使得新生的幼蜂缺乏育幼蜂的照顧使得死亡率增加 [14]。然而，當蜂群被農藥所影響後，其病蟲害感染的比率也將提高，使得新生的幼蟲的存活率降低 [17]。成對的設置允許舊的處理組的育幼蜂穿過新的控制組中，這就和自然界的情形相同，但也因此使得病蟲害和農藥殘留物得以感染原先未經處理的控制組，雖然這種設計可以降低環境造成的影響，但是卻使得病原體和農藥殘留物有轉移的機會。

出於商業利益，蜂農大量使用蜂蠟，但是農藥殘留物經年累月通通封存在蜂蠟中 [18-20]，就如實驗中的重複使用的控制組一般，蜂蠟中的農藥殘留物快速累積和轉移，使得本來沒有農藥的育蜂梳也受到污染。因為當初實驗選擇的蜂群是同一蜂群，所以農藥殘留物會經覓食而在控制組和處理組間傳遞。農藥的代謝物也會經過多次實驗而污染控制組，農藥代謝物可能比農藥殘留物含有更高的毒性，同時也造成延遲效應 [11, 21]。最後以處理組死亡率的降低及控制組死亡率的攀升還討論農藥移轉的後果。

## 亞致死效應的影響(Brood effects of pesticide exposure)

亞致死效應(sub-lethal effects)看起來或許只是延遲其生理週期，但是卻可以提供蜜蜂的寄生蟲-瓦蟎生長優勢，蟎蟲可以入侵並且寄生出生不到30個小時的蜜蜂幼蟲，蟎蟲的第一個卵將孵育雄性的蟎蟲，之後孵育的卵皆會是雌性的蟎蟲[22-24]，蟎蟲最主要的傷害為蟎蟲會寄生在蜜蜂的淋巴組織中並且持續繁衍後代，減緩蜜蜂的代謝並且減輕蜜蜂的體重甚至出現畸形的現象[25, 26]。一般情況下，只有13%的蟎蟲有機會在蜜蜂孵化後的20至21天成熟；然而在農藥造成的延遲效應下蟎蟲成熟的比例和數量都會大幅提升[27]，在這項研究中處理組加入了17種不同的農藥(包括9種化學合成物和5種類尼古丁(Neonicotinoid)殺蟲劑)，造成了延遲效應(Table 3)。

在正常情況下，蜂后所產的卵應該會隨著正常的蜜蜂生理階段生長，然而在處理組中，第4天時卻有23%的卵尚未孵化，到了第8天時，超過46%的幼蟲有發育緩慢、視覺發育不全和生長延遲的跡象(Figs. 6A - C)，其他的處理組皆有以上蜂群衰竭失調(CCD)的現象，這個現象使得蜂群的運作失調，本來育幼蜂會移除無法孵化的蛋，將這些空出的位子供蜂后產下新的卵，然而當育幼蜂的成長受到延遲，育幼蜂來不及成熟，而蜂巢內無法孵化的卵則持續堆積，蜂后也沒有位置產下新的卵，如此循環之後整個蜂群便快速消失，而蜂窩中也只剩下無法孵化的蜂卵[28]。

## 成蟲壽命(Adult longevity)

育養於處理組的工蜂其平均壽命比未經農藥污染的控制組少了4天(Fig. 5)。在此情況下，蜜蜂可能在出生不到8天就必須隨著蜂群去採集花粉[29]，採集花粉的行列中便會出現許多「未成年」的蜜蜂。以長遠的角度來看，這樣的情況將影響蜂巢的運作，包括育幼行為、花粉的處理和儲存、對蜂后的照顧、採集花粉的效率、破壞了蜜蜂以年齡層來區分的社會階層。有報告指出藉由「未成年」育幼蜂協助採集花粉的行為已經嚴重影響到蜂群的規模和活力[30]。在Thompson所做的誘發性早熟覓食模型[30]中發現，模擬的亞致死效應(sub-lethal effects)將減少育幼蜂的育幼能力(平均每隻育幼蜂可以照顧幼蟲的數量)，育幼蜂加入覓食行為後其死亡率將會提升500%。

## 結論(Conclusion)

以分析蜂巢內外部環境的化學物質和污染物作為蜜蜂的生物指標，其指標表示蜂群衰竭失調(CCD)的主要原因是蜜蜂接觸農藥殘留物而導致亞致死效應(sub-lethal effects)所產生嚴重的後果。蜜蜂暴露在農藥殘留物中所造成的綜合影響，如減少成蟲的壽命、幼蟲的死亡率增加、瓦蟎的繁殖力提高(由於蜜蜂發育遲緩較容易被寄生)和病原體的感染性增加，這些影響都將危害蜂群的健康，同時也造成蜂后無法順利孕育新的蜂卵，使得工蜂數量減少，終將迫使蜜蜂族群走向滅絕。

Table 1. 使用於處理組的農藥殘留物列表。

Active ingredient	Chemical Family	Purpose of use	Toxicity honey bee	Average (ng/g)	% detected	min	max	LOD
2,4 Dimethylphenyl formamide (DMPP)		metabolite		145	15	142	147	4
3-hydroxycarbofuran		metabolite		23	8	*	23	4
Aldicarb	Carbamate	INSECT	High	20	8	*	20	4
Azoxystrobin	Strobilurin	FUNG		19	38	5	29	2
Boscalid	Carboxamide	FUNG		35	15	35	64	4
Carbendazim (MBC)		metabolite		21	31	4	48	5
Carbofuran	Carbamate	INSECT	High	32	8	*	32	5
Chlorothalonil	Chloronitrile	FUNG		17	62	4	66	1
Chlorpyrifos	Ogranophosphate	INSECT	High	8	62	3	15	1
Clothianidin	Neonicotinoid	INSECT	High	35	8	*	35	20
Coumaphos	Ogranophosphate	INSECT	Mod	8079	100	281	22100	1
Coumaphos oxon		metabolite		596	100	10	3140	1
Cyfluthrin	Pyrethroid	INSECT	Low	43	17	8	79	2
Cypermethrin	Pyrethroid	INSECT	High	2	8	*	2	2
Cyprodinil	Anilinopyrimidine	FUNG		27	31	13	61	16
Diazinon	Ogranophosphate	INSECT	High	1	15	1	2	1
Dicofol	Organochlorine	INSECT	Low	6	23	4	8	1
Dinotefuran	Neonicotinoid	INSECT	High	97	8	*	97	30
Diphenylamine	Amine	INSECT		151	23	20	281	1
Endosulfan I	Organochlorine	INSECT	Mod	2	54	1	4	1
Endosulfan II	Organochlorine	INSECT	Mod	2	38	1	5	1
Endosulfan sulfate		metabolite		1	31	1	2	1
Esfenvalerate	Pyrethroid	INSECT	High	5	46	1	12	1
Fenhexamid	Hydroxylanilide	FUNG		46	8	*	46	6
Fenpropathrin	Pyrethroid	INSECT	High	7	8	*	7	1
Fluvalinate	Pyrethroid	INSECT	High	6712	100	164	24340	1
Imidacloprid	Neonicotinoid	INSECT	High	45	8	*	45	20
Iprodione	Dicarboximide	FUNG		283	8	*	283	20
Malathion oxon		metabolite		22	8	*	22	4
Norflurazon	Fluorinated pyridazinone	HERB		5	8	*	5	6
Oxamyl	Carbamate	INSECT	High	22	8	*	22	5
Oxyfluorfen	Diphenyl ether	HERB		2	23	1	2	1
Permethrin total	Pyrethroid	INSECT	High	103	8	*	103	10
Phosalone	Ogranophosphate	INSECT	Mod	32	8	*	32	10
Pyrethrins	Pyrethroid	INSECT	High	229	8	*	229	50
Thiacloprid	Neonicotinoid	INSECT	Low	113	8	*	113	8
Thiamethoxam	Neonicotinoid	INSECT	High	38	8	*	38	20
THPI		metabolite		96	15	93	99	50
Vinclozolin	Dicarboximide	FUNG		1	8	*	1	1

Toxicity category for honey bee: LD50 ≤2 µg/bee = highly toxic; Mod; LD50 2–11 µg/bee = moderately toxic; minimum and maximum ranges of pesticides detected; LOD: limit of detection.  
doi:10.1371/journal.pone.0014720.t001

Figure 1. 處理組和控制組中幼蟲在各個生命階段的死亡率與總死亡率。

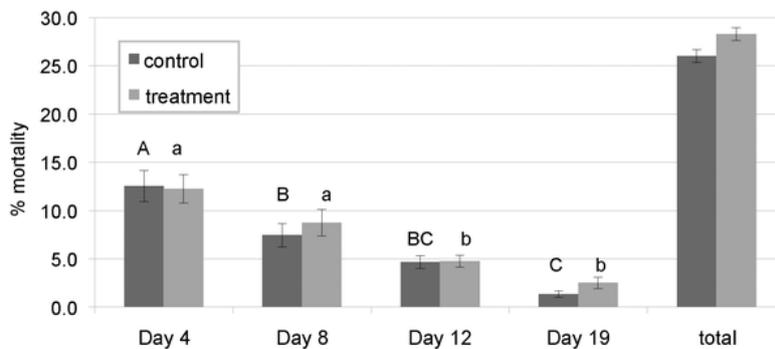


Figure 3. 經過重複實驗後控制組與處理組的幼蟲死亡率。

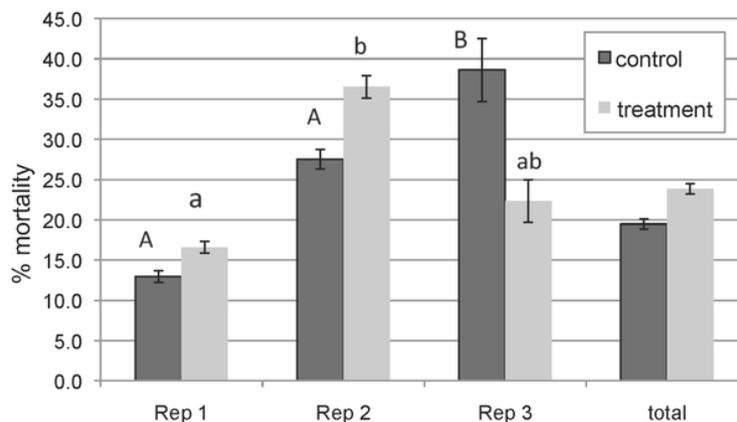
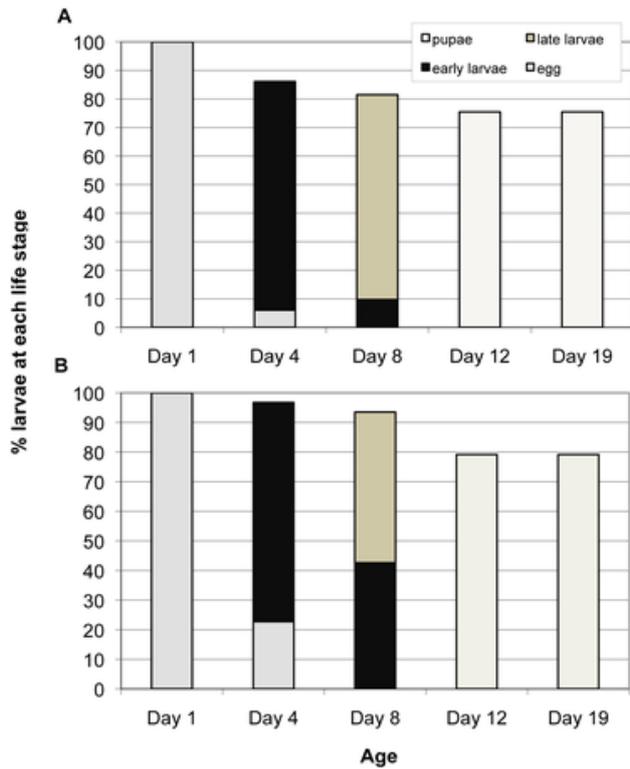


Figure 2. 幼蟲生命階段，從第1天到第19天的情形



(A) 未經污染的控制組幼蟲發育情形。

(B) 經過17種農藥殘留處理後的處理組，其幼蟲發育情形，在第4天和第8天時出現延遲的現象。



(C) 正常幼蟲與受到污染(17種農藥)產生延遲現象的幼蟲在第8天時的情況。左邊:延遲生長; 右邊:正常發育。

Figure 4. 實驗前後控制組與處理組期平均農藥的差異。

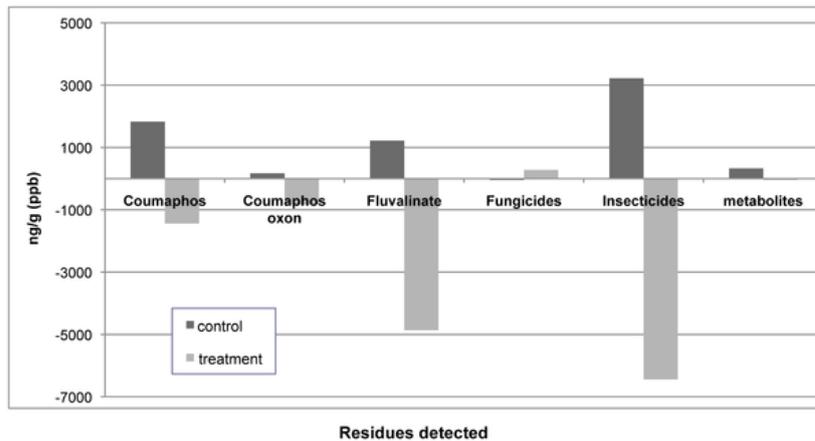
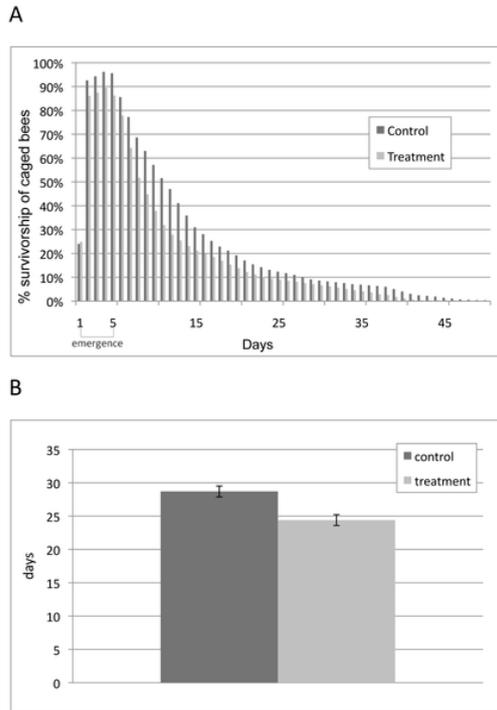
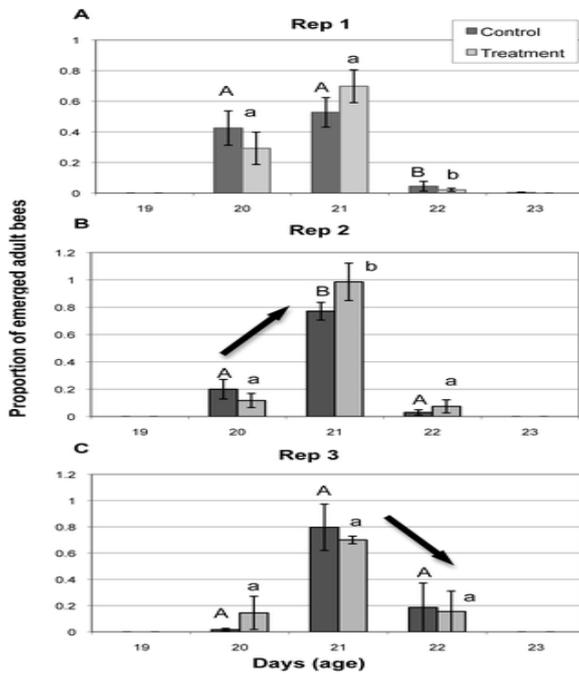


Figure 5. 控制組和處理組中，蜜蜂羽化和壽命的比例。



(A) 50天內，控制組和處理組蜜蜂羽化和壽命分布比例。(B) 控制組和處理組中，蜜蜂平均壽命。在控制組中，蜜蜂的平均壽命比處理組的多了4天( $p = 0.005$ )。

Figure 6. 在控制組與處理組中，蜜蜂經過多次重覆實驗後造成羽化比例的改變。



(A) 第一次重複實驗的羽化情形。  
 (B) 第二次重複實驗的羽化情形。  
 (C) 第三次重複實驗的羽化情形。

Table 3. 處理組中的農藥殘留與延遲蜜蜂生長的相關性。

Pesticides	Chemical family	Systemic	Toxicity honey bee	(ng/g) ppb	LOD
3-hydroxy-carbofuran	metabolite	Systemic		23	4
Aldicarb	Carbamate	Systemic	High	20	4
Carbofuran	Carbamate	Systemic	High	32	5
Chlorothalonil	Fungicide		---	4	1
Clothianidin	Neonicotinoid	Systemic	High	35	20
Coumaphos	Organophosphate		Moderate	22100	1
Coumaphos oxon	metabolite			1850	5
Cyfluthrin	Pyrethroid		High	7.9	2
Dinotefuran	Neonicotinoid	Systemic	High	97	30
Diphenylamine	Amine		---	281	1
Endosulfan 1	Organochlorine		Moderate	1	1
Fluvalinate	Pyrethroid		High	164	1
Imidacloprid	Neonicotinoid	Systemic	High	45	20
Malathion Oxon	metabolite			22	4
Oxamyl	Carbamate	Systemic	High	22	5
Thiacloprid	Neonicotinoid	Systemic	High	113	8
Thiamethoxam	Neonicotinoid	Systemic	High	38	20

Toxicity category for honey bee: High; LD50 ≤2 µg/bee = highly toxic; Mod; LD50 2–11 µg/bee = moderately toxic; LOD; limit of detection.  
doi:10.1371/journal.pone.0014720.t003

## 參考資料(Reference)

1. Van Engelsdorp D, Underwood RM, Caron D, Hayes J Jr (2007) An estimate of managed colony losses in the winter of 2006–2007: a report commissioned by the Apiary Inspectors of America. *Am Bee J* 147: 599–603. [FIND THIS ARTICLE ONLINE](#)
2. Van Engelsdorp D, Evans J, Saegerman C, Mullin C, Haubruge E, et al. (2009) Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS ONE* 4: e6481. [FIND THIS ARTICLE ONLINE](#)
3. Bonmatin JM, Moineau I, Charvet R, Colin ME, Fleche C, et al. (2005) Behaviour of imidacloprid in fields. Toxicity for honey bees. In: Lichtfouse E, Schwarzbauer J, Didier R, editors. *Environmental Chemistry: green chemistry and pollutants in ecosystems*. Berlin: Springer. pp. 483–494.
4. Ramirez-Romero R, Chaufaux J, Pham-Delègue M (2005) Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach. *Apidologie* 36: 601–11. [FIND THIS ARTICLE ONLINE](#)
5. Girolami V, Mazzon L, Squartini A, Mori N, Marzaro M, et al. (2009) Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seed to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. *J Econ Entomol.* 102. (5): pp. 1808–1815.
6. Higes M, Martín-Hernández R, Garrido-Bailón E, González-Porto AV, García-Palencia P, et al. (2009) Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. *Environ Microbiol Reports* 1: 110–113. [FIND THIS ARTICLE ONLINE](#)
7. Ladas A (1972) The influence of some internal and external factors upon the insecticide resistance of honeybees. *Apidologie* 3: 55–78. [FIND THIS ARTICLE ONLINE](#)
8. Alaux C, Brunet J, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S, et al. (2009) Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol* 12: 774–782. [FIND THIS ARTICLE ONLINE](#)
9. The honeybee genome sequencing consortium (2006) Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature* 443: 931–949. [FIND THIS ARTICLE ONLINE](#)
10. Claudianos C, Ranson H, Johnson RM, Biswas S, Schuler MA, et al. (2006) A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect Mol Biol* 15: 615–636. [FIND THIS ARTICLE ONLINE](#)

(後略)