

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx—xxxx

农药登记环境影响试验生物试材培养

第1部分：蜜蜂

Guidance on the housing and care of organisms used for environmental
impact test of pesticide registration, Part 1: Honeybee

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

中华人民共和国农业农村部发布

前 言

NY/T ×××× 《农药登记环境影响试验生物试材培养》，分为 4 部分：

- 第 1 部分：蜜蜂；
- 第 2 部分：日本鹌鹑；
- 第 3 部分：斑马鱼；
- 第 4 部分：家蚕。

本部分是 NY/T ×××× 的第 1 部分。

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本标准负责起草单位：

本标准主要起草人：

农药登记环境影响试验生物试材培养

第1部分：蜜蜂

1 范围

本标准规定了农药环境影响试验用蜜蜂的引入与验收、饲养管理，以及记录与资料要求等。

本标准适用于意大利蜜蜂 (*Apis mellifera*) 的实验室培养，其他品种的蜜蜂可参照使用。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

蜂群 honeybee colony

蜜蜂自然生存和蜂场饲养管理的基本单位，由蜂王、雄蜂和工蜂组成。

2.2

蜂王 queen

由王台（蜂王房）里的受精卵发育而成的雌蜂。其身体比工蜂长 $1/4\sim 1/3$ ，腹部约占体长的 $3/4$ ，翅较短，仅覆盖至腹部的一半。其终身职责是负责产卵和繁殖后代，寿命长达几年。

2.3

工蜂 worker bees

由工蜂房里的受精卵发育而成的雌蜂，但生殖器发育不完全，意大利蜂工蜂体重约0.1 g。其职责为护脾保温、清理巢房、分泌王浆、饲喂幼虫和蜂王、泌蜡造脾、采集蜂蜜和花粉、防御敌害等。寿命通常为2个月~3个月，采蜜季节平均寿命仅45 d左右。

2.4

雄蜂 drones

由未受精卵发育而成。其仅负责与蜂王交尾，无其他工作本能，寿命仅几个月。

2.5

蜜蜂巢脾 honeybee comb

是蜂巢的组成部分，由蜜蜂筑造、双面布满巢房的蜡质结构。蜜蜂蜂巢通常由几片到几十片巢脾组成。人工养殖的蜂箱中，一个框为一个巢脾。

2.6

蜜蜂幼虫 larva of honeybee

蜜蜂卵孵化后至变态化蛹前的虫态。

2.7

蛹 pupa

蜜蜂老熟幼虫停止取食至成虫羽化前的一个发育阶段。化蛹时，幼虫结构解体，成虫结构形成，初次出现翅。

2.8

插花子脾 shot brood

由于病虫害或者营养不良造成了蜜蜂幼虫死亡，工蜂会将封盖咬掉并将死亡的幼虫拖走，这样就造成了有些子脾封盖，有些子脾没封盖的情况，之后蜂王再在空房中产卵，造成子脾上出现幼虫虫龄极不一致，卵、小幼虫、大幼虫、蛹、空房花杂排列的现象。

3 引入与验收

3.1 蜂群引入

应从专业养蜂场成箱购买营养状况良好的健康蜜蜂，并选择蜂群处于繁殖期、外界气温和蜜粉源条件较好时引入，南方宜在2月~3月或9月~10月；北方宜在4月~5月。其他时间引入蜂群时，应确保蜂箱内食物充足。

3.2 蜂群验收

3.2.1 形态检查

意大利蜜蜂体形较小，腹部细长，体表绒毛淡黄色，工蜂在第2~4腹节背板具棕黄色环带，黄色区域的大小和色泽深浅有很大变化，一般以两个黄环为最多，吻较长（6.3mm~6.6mm）。蜂王的腹部多为黄色至暗棕色，尾部黑色，只有少数全部为黄色。工蜂体长12 mm~13mm，雄蜂体长14 mm~16mm，蜂王体长16 mm~17mm。

3.2.2 健康检查

对所引入蜂群的健康状态进行检查，具体标准如下：

——蜂王：腹大尾略尖，四翅六足健全，行动稳重；

——工蜂：个体大、色鲜、表现温顺；

——蜂群应健康无病（蜜蜂常见疾病及诊断方法参见附录A）。

4 饲养管理

4.1 饲养场所

4.1.1 饲养场所分为室内和室外。气候适宜时，可将蜂箱置于室外树阴、凉棚下。

4.1.2 冬季时，可根据当地气候情况采取适当措施进行蜂箱内或蜂箱外保温。室外气候不适宜蜂群生存时，可将蜂群移入（温）室内。室内温度应控制在14℃~32℃，相对湿度保持在40%~80%。

4.1.3 夏季时，采取遮荫、洒水等措施为蜂群生产和繁殖创造适宜的温、湿度条件，保持蜂群群势增长。

同时，应毁掉自然王台，加强通风，防止自然分蜂。

4.1.4 定期清除箱底死蜂、蜡渣、霉变物，保持箱体清洁。

4.2 饲喂

4.2.1 室外饲养时，蜂群从自然界中自采自食、自产自繁，一般无须特殊饲喂；食物不足时，应补充饲喂花粉、蔗糖、蜂蜜等。

4.2.2 室内饲养蜂群时，应定期进行人工饲喂，用饲喂器饲以优质蜂蜜。在越冬后期及早春时节，宜补充饲喂花粉、蔗糖，保证食物充足。

4.2.3 饲养场所应始终保持饮用水供应，设置喂水器并定期进行清洗消毒。

4.3 健康检查

4.3.1 箱外观察

4.3.1.1 观察频率

每周至少观察 2 次蜂箱巢门及附近场地上蜜蜂的形态与行为（冬季可适当减少观察频率）。

4.3.1.2 观察内容

4.3.1.2.1 蜜蜂形态有无异常；有无死蜂（包括幼虫尸体）出现，如有，观察其有无瘦小、翅残、白垩状、腹部异常膨大等异常形态；

4.3.1.2.2 蜜蜂飞行有无异常，有无急躁不安、无力爬行、下痢等异常表现；

4.3.2 箱内观察

4.3.2.1 观察频率

每周至少进行 2 次箱内观察（冬季可适当减少观察频率）。蜂箱数量>20 箱时，每次观察 2 箱，蜂箱数量≤20 箱时，每次至少观察 1 箱。

4.3.2.2 观察内容

4.3.2.2.1 观察箱内蜜蜂有无异常形态或行为，蜂箱箱底有无死蜂及幼虫尸体；

4.3.2.2.2 提脾检查，观察蜜蜂身体上有无大蜂螨。提出子脾（每箱蜂取子脾 2 张以上），观察卵、幼虫分布与发育情况，以及有无插花子脾（空房花杂排列）、幼虫体色异常或死亡幼虫出现。

4.3.2.2.3 观察封盖子脾表面有无大、小蜂螨和穿孔；打开房盖挑出蜂蛹，查看蛹体及巢房内有无大、小蜂螨。

4.3.3 蜜蜂常见疾病及诊断方法参见附录 A。

4.4 病害处理

4.4.1 蜂群患美洲幼虫腐臭病、欧洲幼虫腐臭病、蜜蜂孢子虫病、白垩病时，应立即对蜂群进行销毁处理，重新引入健康蜂群。

4.4.2 蜂群患蜂螨病时，可采用适宜的杀螨剂进行治疗，直至蜂螨平均寄生密度（螨数/检查蜂数）达到0.1以下。经过治疗或预防处理的蜂群，恢复健康1个月后方可用于试验。

4.4.3 大量蜜蜂出现不明原因死亡时，应做好深埋、焚烧等无害化处理。

5 记录与资料

对于每批次蜜蜂，实验室应保存完整的饲养记录，至少包括以下材料（参见附录B）：

- 引入与验收记录；
- 饲养记录；
- 健康检查记录；
- 环境条件监测记录；
- 预防和治疗用药情况（如有）等。

附录 A

(资料性附录)

蜜蜂常见疾病及诊断方法

A.1 适用范围

美洲幼虫腐臭病、欧洲幼虫腐臭病、蜜蜂孢子虫病、白垩病、蜂螨病。

A.2 检查方法

美洲幼虫腐臭病、欧洲幼虫腐臭病、蜜蜂孢子虫病、白垩病、蜂螨病的主要症状及确诊方法参见表A.1。

表 A.1 蜜蜂常见病害及其表现

病害名称	表现症状	确诊方法
美洲幼虫腐臭病	<p>——子脾上出现幼虫虫龄极不一致，卵、小幼虫、大幼虫、蛹、空房花杂排列（俗称“花子现象”）</p> <p>——封盖子脾上，巢房封盖出现发黑，湿润下陷，并有针头大的穿孔</p> <p>——患病幼虫体色呈苍白色、淡褐色、棕色或棕黑色，虫体顺着背部下塌，尾尖位于巢房底</p> <p>——腐烂后的幼虫尸体呈黑褐色并具有粘性，用镊子挑起可拉成丝（2 cm~5cm），干枯后的死虫呈鳞片状，有鱼腥味</p>	<p>从蜂群中抽取部分封盖子脾，挑取其中的死幼虫 5 条~10 条，置研钵中，加 2 ml~3 ml 无菌水研碎后制成悬浮液、涂片，经革兰氏染色，在 1000 倍~1500 倍显微镜下镜检，发现大量革兰氏阳性的游离状的杆菌芽孢，经细菌培养鉴定确认后，可判定为美洲幼虫腐臭病</p>
欧洲幼虫腐臭病	<p>——未封盖子脾上出现虫卵相间的“花子现象”，有大量空巢房</p> <p>——2 日~4 日龄的小幼虫死亡后，虫体初为苍白色，后变为黄色至黑褐色，虫体可见明显的白色背线，盘缩于巢房底；腐烂的幼虫无粘性，有酸臭味</p>	<p>从蜂群中抽取部分未封盖 2~4 日龄幼虫脾，挑取其中的死幼虫 5 条~10 条，置研钵中，加 2 ml~3 ml 无菌水研碎后制成悬浮液、涂片，经革兰氏染色后，1000 倍~1500 倍显微镜下镜检，发现 $0.5 \mu\text{m} \times 1.0 \mu\text{m}$ 呈革兰氏阳性的单个、短链或呈簇状排列的披针形球菌，同时有许多杆菌和芽孢杆菌等多种微生物，经细菌培养鉴定确认后，判定为欧洲幼虫腐臭病</p>
蜂螨病	<p>——封盖子房出现穿孔，可见黑色的死亡幼虫和蛹</p> <p>——危害严重时蜂巢门口及附近场地上可见死蛹和瘦小、翅残不全或无翅的幼蜂爬行</p>	<p>从 2 个以上子脾中随机抽取 50 只蜂蛹，在解剖镜下（或其它方式）逐个检查蜂蛹体表有无蜂螨寄生。其中一个蜂群的蜂螨平均寄生密度达到 0.1 以上，判定为蜂螨病。</p>

白垩病	<ul style="list-style-type: none"> ——主要表现为封盖幼虫死亡，死亡幼虫初为白色，逐渐变成灰色或黑色， ——虫体干枯后呈白垩状，表面覆盖有白色菌丝；蜂箱外可见白垩状死虫 	<p>从病死僵化的幼虫体表刮取少量白垩状物或刮取黑色物体进行镜检观察，发现有白色棉絮菌丝和充满孢子球的子囊，经细菌培养鉴定确认后，可判定为蜜蜂白垩病。</p>
蜜蜂孢子虫病	<ul style="list-style-type: none"> ——巢框上或巢门口可见黄棕色粪迹，病蜂黑头黑尾，腹部膨大、末端呈暗黑色，第1、2节背板呈棕色略透明状 ——腹泻，中肠呈现灰白色、膨大、表面纹路模糊不清 ——失去飞翔能力 	<p>在蜂箱门口与蜂箱上梁处避光收集8日龄以下的成年工蜂60只，取出30只(另30只备用)消化系统，置研钵中，加2ml~3ml无菌水研碎后制成悬浮液，置干净载玻片上，在400倍~600倍显微镜下镜检，若发现卵圆近米粒形，边缘灰暗，具有蓝色折光的孢子，经细菌培养鉴定确认后，可判定为蜜蜂孢子虫病。</p>

附录 B

(资料性附录)

记录表格 (示例)

蜜蜂引入与验收记录见表 B.1。

蜜蜂饲养记录见表 B.2。

蜜蜂健康检查记录见表 B.3。

表 B.1 引入与验收记录

引入日期:
引入数量:
品种确认:
蜂王健康状态:
工蜂健康状态:
蜂群健康状态是否满足要求 (检查记录按表 B.3 填写):
蜜蜂来源地:
提供单位:
运输方式:
验收者/日期:
实验室内批号:

表 B.2 饲养记录

批号:					放置场所:				
日期	食物配制				蜂箱号/ 喂食量	温度 (℃)	相对 湿度 (%)	饮用水 添加	操作者 /日期
	食物 类型	等级/ 批号	用量/ 仪器编号	加入 清水量					
	蜂蜜								
	蔗糖								
	花粉								
	蜂蜜								
	蔗糖								
	花粉								
备注 (其他日常管理情况):									

表 B.3 健康检查记录

批号:						
放置场所:						
检查日期/时间:						
蜂箱外蜜蜂行为:						
蜂箱外的蜜蜂形态:						
蜂箱号						
箱内蜜蜂形态与行为						
箱底有无死蜂/蜂幼虫						
子脾数						
空脾数						
卵、幼虫分布与发育情况是否正常						
有无蜂螨出现						
有无花子出现						
有无其他异常症状						
健康检查结果						
疾病确诊结果(如有)						
疾病处理情况(如有)						
检查人/日期						

参 考 文 献

- [1] OECD Guidance Document 75: Guidance document on the honey bee (*Apis mellifera L.*) brood test under semi-field conditions. Series on testing and assessment, Number 75. ENV/JM/MONO(2007)22.
 - [2] OECD. Testing Guideline 213: Honeybees, acute oral toxicity test, OECD Guidelines for the testing of chemicals, 1998.
 - [3] OECD. Testing Guideline 214: Honeybees, acute contact toxicity test, OECD Guidelines for the testing of chemicals, 1998.
 - [4] OECD. Testing Guideline 245: Honeybee (*Apis mellifera L.*), chronic oral toxicity test (10-day feeding), OECD Guidelines for the testing of chemicals, 2017.
-