



中华人民共和国国家标准

GB/T 31270.11—2014

化学农药环境安全评价试验准则 第 11 部分：家蚕急性毒性试验

Test guidelines on environmental safety assessment for chemical
pesticides—Part 11: Silkworm acute toxicity test

2014-10-10 发布

2015-03-11 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

GB/T 31270《化学农药环境安全评价试验准则》分为 21 个部分：

- 第 1 部分：土壤降解试验；
- 第 2 部分：水解试验；
- 第 3 部分：光解试验；
- 第 4 部分：土壤吸附/解吸试验；
- 第 5 部分：土壤淋溶试验；
- 第 6 部分：挥发性试验；
- 第 7 部分：生物富集试验；
- 第 8 部分：水-沉积物系统降解试验；
- 第 9 部分：鸟类急性毒性试验；
- 第 10 部分：蜜蜂急性毒性试验；
- 第 11 部分：家蚕急性毒性试验；
- 第 12 部分：鱼类急性毒性试验；
- 第 13 部分：溞类急性活动抑制试验；
- 第 14 部分：藻类生长抑制试验；
- 第 15 部分：蚯蚓急性毒性试验；
- 第 16 部分：土壤微生物毒性试验；
- 第 17 部分：天敌赤眼蜂急性毒性试验；
- 第 18 部分：天敌两栖类急性毒性试验；
- 第 19 部分：非靶标植物影响试验；
- 第 20 部分：家畜短期饲喂毒性试验；
- 第 21 部分：大型甲壳类生物毒性试验。

本部分是 GB/T 31270 的第 11 部分。

本部分按照 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。

本部分由中华人民共和国农业部提出并归口。

本部分负责起草单位：农业部农药检定所、环保部南京环境科学研究所。

本部分主要起草人：张燕、姜辉、杨亚哲、周军英、王开运、刘勇、王会利、张晶。

化学农药环境安全评价试验准则

第 11 部分：家蚕急性毒性试验

1 范围

GB/T 31270 的本部分规定了浸叶法和熏蒸法测定化学农药对家蚕急性毒性试验的材料、条件、操作、质量控制、数据处理、试验报告等的基本要求。

本部分适用于为化学农药登记而进行的家蚕浸叶法毒性试验和熏蒸法毒性试验，其他类型的农药可参照使用。

本部分不适用于易挥发和难溶解的化学农药。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

半致死浓度 median lethal concentration

在浸叶法毒性试验中，引起 50% 供试生物死亡时的供试物浓度，用 LC_{50} 表示。

注：单位为 mg a. i./L。

2.2

供试物 test substance

试验中需要测试的物质。

2.3

化学农药 chemical pesticide

利用化学物质人工合成的农药。其中有些以天然产品中的活性物质为母体，进行仿制、结构改造，创新而成，为仿生合成农药。

同义词：有机合成农药 synthetic organic pesticide。

[NY/T 1667.1—2008, 定义 2.3.1]

2.4

原药 technical material

在制造过程中得到的有效成分及杂质组成的最终产品，不能含有可见的外来物质和任何添加物，必要时可加入少量的稳定剂。

[NY/T 1667.2—2008, 定义 2.5.1]

2.5

制剂 formulation product

由农药原药(或母药)和助剂制成使用状态稳定的产品。

[NY/T 1667.2—2008, 定义 2.4]

2.6

有效成分 active ingredient; a. i.

农药产品中具有生物活性的特定化学结构成分。

[NY/T 1667.2—2008, 定义 3.1]

2.7

参比物质 reference substances

在测试中为证实或否定供试物的某种特性或判断测试系统有效性而使用的化学物质或混合物。

3 试验概述

3.1 方法概述

家蚕急性毒性试验包括浸叶法毒性试验方法和熏蒸法毒性试验方法,根据农药登记管理法规及其他规定选择相关方法进行试验。

3.2 浸叶法毒性试验

采用不同浓度的药液浸渍桑叶,晾干后饲喂家蚕。整个试验期间饲喂处理桑叶,观察 24 h、48 h、72 h、96 h 后受试家蚕的中毒症状及死亡情况,试验结束后对数据进行统计分析,并计算半致死浓度 LC_{50} 值。

3.3 熏蒸法毒性试验

针对卫生用药模拟室内施药条件进行的试验,应在满足试验要求的熏蒸试验装置或熏蒸室内进行。熏蒸试验装置或熏蒸室应在满足试验要求的前提下,按照推荐用药量设计相关参数。供试物在试验装置或熏蒸室中定量燃烧(或电加热),从熏蒸开始,按 0.5 h、2 h、4 h、6 h、8 h 观察记录熏蒸试验装置内家蚕的毒性反应症状,8 h 后将试验装置内的家蚕取出,在家蚕常规饲养条件下继续观察 24 h 及 48 h 的家蚕死亡情况。

4 试验方法

4.1 材料和条件

4.1.1 供试生物

试验用家蚕(*Bombyx mori*)品种选用菁松×皓月,春蕾×镇珠,苏菊×明虎,或其他有代表性的品系。以二龄起蚕为毒性试验材料。

4.1.2 供试物

供试物应使用农药纯品、原药或制剂。难溶于水的可用少量对家蚕毒性小的有机溶剂、乳化剂或分散剂助溶,其用量不得超过 0.1 mL(g)/L。

4.1.3 主要仪器设备

主要仪器设备如下:

- 人工气候室;
- 电子天平;
- 培养皿;
- 熏蒸箱等。

4.1.4 试验条件

家蚕饲养和试验温度为 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 70%~85%。

4.2 试验操作

4.2.1 浸叶法

4.2.1.1 预试验

按正式试验的条件,以较大的间距设置3个~5个浓度组,通过预试验求出家蚕最高全存活浓度和最低全致死浓度。

4.2.1.2 正式试验

根据预试验确定的浓度范围按一定比例间距(几何级差应控制在2.2以内)设置5个~7个浓度组,每组20头蚕,并设空白对照,加溶剂助溶的还需设溶剂对照。对照组和每一浓度组均设3个重复。在培养皿内饲养二龄起蚕,用不同浓度的药液完全浸渍桑叶10s,晾干后供蚕食用。整个试验期间饲喂处理桑叶,观察并记录24h、48h、72h和96h试验用家蚕的中毒症状及死亡情况。试验结束后对数据进行数理统计,计算半致死浓度 LC_{50} 值及95%置信限。

若供试物为昆虫生长调节剂,且试验72h~96h之间家蚕的死亡率增加10%以上,应延长观察时间,直至24h内死亡率增加小于10%。

4.2.1.3 限度试验

设置上限浓度2000mg a. i. /L,即在供试物达2000mg a. i. /L时仍未见家蚕死亡,则无需继续进行试验。若供试物溶解度小于2000mg a. i. /L,则采用其最大溶解度作为上限浓度。

4.2.2 熏蒸法

熏蒸试验可在熏蒸箱或其他可满足试验要求的试验装置内进行。供试物在试验装置内定量燃烧(或电热片加热),从熏蒸开始,按0.5h、2h、4h、6h、8h观察记录熏蒸试验装置内家蚕的毒性反应症状,8h后,将熏蒸试验装置内的家蚕取出,在家蚕常规饲养条件下继续观察24h及48h的家蚕死亡情况。每个处理组设置9个重复,同时设置空白对照(设3个重复)。观察记录家蚕摄食情况(减少或拒食)、不适症状(逃避、昂头、晃头、甩头、扭曲挣扎、吐水等)及死亡情况等。

4.3 数据处理

4.3.1 统计分析方法的选择

可采用寇氏法、直线内插法或概率单位图解法计算每一观察时间(24h、48h、72h、96h)的家蚕浸叶法毒性的半致死浓度 LC_{50} ,也可采用数据统计软件进行分析和计算。

4.3.2 寇氏法

用寇氏法可求出家蚕在24h、48h、72h和96h的 LC_{50} 值及95%置信限。

LC_{50} 的计算见式(1):

$$\log LC_{50} = X_m - i(\sum P - 0.5) \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X_m ——最高浓度的对数;

i ——相邻浓度比值的对数;

$\sum P$ ——各组死亡率的总和(以小数表示)。

95%置信限的计算见式(2):

$$95\% \text{ 置信限} = \log LC_{50} \pm 1.96 S \log LC_{50} \dots\dots\dots (2)$$

标准误的计算见式(3):

$$S \log LC_{50} = i \sqrt{\sum \frac{pq}{n}} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

p —— 1 个组的死亡率;

q —— $1 - p$;

n —— 各浓度组家蚕的数量。

4.3.3 直线内插法

采用线性刻度坐标, 绘制死亡百分率对试验物质浓度的曲线, 求出 50% 死亡时的 LC_{50} 值。

4.3.4 概率单位图解法

用半对数纸, 以浓度对数为横坐标、死亡百分率对应的概率单位为纵坐标绘图。将各实测值在图上用目测法画一条相关直线, 从直线中读出致死 50% 的浓度对数, 估算出 LC_{50} 值。

4.4 质量控制

质量控制条件包括:

—— 对照组死亡率不超过 10%;

—— 实验室内应定期(蚕卵每批一次, 同批蚕卵至少每两个月一次)进行参比物质试验, 推荐参比物质为乐果。

5 试验报告

试验报告应包括下列内容:

—— 供试物的信息, 包括供试农药的通用名、化学名称、结构式、CAS 号、纯度、基本理化性质、来源等;

—— 供试生物的名称、来源、大小及饲养情况;

—— 试验条件, 包括试验温度、试验方法等;

—— 试验药液的浓度, 24 h、48 h、72 h 及 96 h 的 LC_{50} 值(浸叶法)或 8 h、24 h、48 h 的死亡率(熏蒸法)和 95% 置信限, 并给出所采用的计算方法;

—— 对照组家蚕是否出现死亡及异常反应;

—— 观察到的毒性效应, 如受试家蚕的任何不正常的行为、中毒症状等;

—— 对家蚕的毒性等级划分参见附录 A。

附 录 A
(资料性附录)
农药对家蚕毒性等级划分

按农药对家蚕急性浸叶法的毒性半致死浓度 LC_{50} (96 h), 将农药对家蚕的急性毒性分为四级, 见表 A.1。

表 A.1 农药对家蚕的毒性等级划分

毒性等级	LC_{50} (96 h)/(mg a. i. /L)
剧毒	$LC_{50} \leq 0.5$
高毒	$0.5 < LC_{50} \leq 20$
中毒	$20 < LC_{50} \leq 200$
低毒	$LC_{50} > 200$

熏蒸试验主要是针对卫生用药模拟室内施药条件下进行的试验, 如果家蚕的死亡率大于 10% 以上时, 即视为对家蚕高风险。

参 考 文 献

- [1] NY/T 1667.1—2008 农药登记管理术语 第1部分:基本术语
- [2] NY/T 1667.2—2008 农药登记管理术语 第2部分:产品化学
- [3] OECD(1998a).Guideline 213: Honeybees, acute oral toxicity test, OECD Guidelines for the Testing of chemicals.
- [4] OECD(1998b). Guideline 214: Honeybees, acute contact toxicity test, OECD Guidelines for the Testing of chemicals.
- [5] OECD(1992).Guidelines.203: Fish, acute toxicity test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals.
- [6] 蔡道基.农药环境毒理学研究.北京:中国环境科学出版社,1999.
- [7] NY/T 1154.14—2008 农药室内生物测定试验准则 杀虫剂 第14部分:浸叶法
- [8] GB/T 13917.10—2009 农药登记用卫生杀虫剂室内药效试验及评价 第10部分:模拟现场
-