



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 31270.12—2014

---

## 化学农药环境安全评价试验准则 第 12 部分：鱼类急性毒性试验

Test guidelines on environmental safety assessment for chemical  
pesticides—Part 12: Fish 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 12 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：姜辉、宋伟华、袁善奎、单正军、邱立红、刘贤进、查金苗、吴声敢。

# 化学农药环境安全评价试验准则

## 第 12 部分:鱼类急性毒性试验

### 1 范围

GB/T 31270 的本部分规定了化学农药鱼类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鱼类急性毒性试验,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**

在急性毒性试验中,引起 50% 的供试生物死亡时的供试物浓度,用  $LC_{50}$  表示。

注:单位是 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**

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

**静态试验法 static test**

试验期间不更换试验药液。

2.8

**半静态试验法 semi-static test**

试验期间每隔一定时间(如 24 h)更换一次药液,以保持试验药液的浓度不低于初始浓度的 80%

2.9

**流水式试验法 flow-through test**

试验期间药液连续更新。

2.10

**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

鱼类急性毒性测定方法有静态法、半静态法与流水式试验法三种。应按供试物的性质采用适宜的方法。分别配制不同浓度的供试物药液,于 96 h 的试验期间每天观察并记录试验用鱼的中毒症状和死亡数,并求出 24 h、48 h、72 h 和 96 h 的  $LC_{50}$  值及 95% 置信限。

4 试验方法

4.1 材料和条件

4.1.1 供试生物

推荐鱼种为斑马鱼 (*Brachydanio rerio*)、鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)、虹鳟鱼 (*Oncorhynchus mykiss*)、青鳉 (*Oryzias latipes*) 或稀有鮎鲫 (*Gobiocypris rarus*) 等的幼鱼,具体全长和适宜水温参见附录 A。如果选用其他鱼类作为试验材料,应采用能够满足其生理要求的相应预养和试验条件,并加以说明。

试验用鱼应健康无病,大小一致。试验前应在与试验时相同的环境条件下预养 7 d~14 d,预养期间每天喂食 1 次~2 次,每日光照 12 h~16 h,及时清除粪便及食物残渣。试验前 24 h 停止喂食。

4.1.2 供试物

供试物应使用农药纯品、原药或制剂。对难溶于水的农药,可用少量对鱼低毒的有机溶剂、乳化剂或分散剂助溶,其用量不得超过 0.1 mL(g)/L。

4.1.3 参比物质

重铬酸钾(分析纯以上)。

4.1.4 主要仪器设备

主要仪器设备如下:

——溶解氧测定仪;

——电子天平;

——温度计;

- 酸度计；
- 满足最大承载量的玻璃容器；
- 量筒等。

#### 4.1.5 试验用水

试验用水为存放并去氯处理 24 h 以上的自来水(必要时经活性炭处理)或能注明配方的稀释水。水质硬度在 10 mg/L~250 mg/L 之间(以 CaCO<sub>3</sub> 计),pH 在 6.0~8.5 之间,溶解氧不低于空气饱和值的 60%。试验水温参见附录 A(单次试验温度控制在±2℃)。

### 4.2 试验操作

#### 4.2.1 方法的选择

按农药的特性选择静态试验法、半静态试验法或流水式试验法。如使用静态或半静态试验法,应确保试验期间试验药液中供试物浓度不低于初始浓度的 80%。如果在流水式试验法试验期间试验药液中供试物浓度发生超过 20% 的偏离,则应检测试验药液中供试物的实际浓度并以此计算结果,或使用流动试验法进行试验,以稳定试验药液中供试物浓度。

#### 4.2.2 预试验

按正式试验的条件,以较大的间距设若干组浓度。每处理至少用鱼 5 尾,可不设重复,观察并记录试验用鱼 96 h(或 48 h)的中毒症状和死亡情况。通过预试验求出试验用鱼的最高全存活浓度及最低全致死浓度,在此范围内设置正式试验的浓度。

#### 4.2.3 正式试验

在预试验确定的浓度范围内按一定比例间距(几何级差应控制在 2.2 倍以内)设置 5 个~7 个浓度组,并设一个空白对照组,若使用溶剂助溶应增设溶剂对照组,每组至少放入 7 尾鱼,可不设重复,并保证各组使用鱼数相同,试验开始后 6 h 内随时观察并记录试验用鱼的中毒症状及死亡数,其后于 24 h、48 h、72 h 和 96 h 观察并记录试验用鱼的中毒症状及死亡数,当用玻璃棒轻触鱼尾部,无可见运动即为死亡,并及时清除死鱼。每天测定并记录试验药液温度、pH 及溶解氧。

#### 4.2.4 限度试验

设置上限有效浓度 100 mg a. i./L,即试验用鱼在供试物浓度达 100 mg a. i./L 时未出现死亡,则无需继续试验。若供试物溶解度小于 100 mg a. i./L,则采用其最大溶解度作为上限浓度。

### 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(24 h、48 h、72 h、96 h)的鱼类急性毒性的半致死浓度  $LC_{50}$ ,也可采用数据统计软件进行分析和计算。

#### 4.3.2 寇氏法

用寇氏法可求出鱼类在 24 h、48 h、72 h 和 96 h 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；  
 $q$  —— $1-p$ ；  
 $n$  ——各浓度组鱼类的数量。

### 4.3.3 直线内插法

采用线性刻度坐标,绘制试验物质浓度对死亡百分率的曲线,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：

- 试验用鱼预养期间死亡率不得超过5%,对照组死亡率不超过10%,若鱼的数量少于10条,则最多允许死亡1条；
- 试验期间,试验溶液的溶解氧含量应不低于空气饱和值的60%；
- 实验室内用重铬酸钾定期(每批1次或者至少1年两次)进行参比物质试验,对于斑马鱼, $LC_{50}$ (24 h)应处于200 mg/L~400 mg/L之间；
- 静态试验法和半静态试验法的最大承载量为1.0 g 鱼/L 水,流水式试验系统最大承载量可高一些。

## 5 试验报告

试验报告至少应包括下列内容：

- 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；
- 供试生物名称、来源、大小及预养情况；
- 试验条件,包括试验温度、光照等,试验用水的温度、溶解氧浓度及pH等；
- 试验药液的浓度及24 h、48 h、72 h和96 h的 $LC_{50}$ 值和95%置信限,并给出所采用的计算方法；
- 对照组试验用鱼的死亡率、行为反应异常；
- 试验质量控制条件描述；
- 鱼的毒性等级划分参见附录B。

## 附录 A

(资料性附录)

## 试验用鱼体长要求及适宜温度条件

根据供试鱼种类选择适宜全长的幼鱼及合适的水温进行试验(见表 A.1)。

表 A.1 试验用鱼的全长和适宜水温

鱼 种	全长/cm	适宜水温/℃
斑马鱼	2.0±1.0	21 ~25
虹鳟鱼	5.0±1.0	13~17
青鳉	2.0±1.0	21~25
鲤鱼	3.0±1.0	20~24
稀有鮡鲫	3.0±1.0	21~25

附 录 B  
(资料性附录)  
农药对鱼类毒性等级划分

按鱼类半致死浓度  $LC_{50}$  (96 h) 值, 将农药对鱼类毒性分为四个等级, 见表 B.1。

表 B.1 农药对鱼类的毒性等级划分

毒性等级	$LC_{50}$ (96 h)/(mg a. i. /L)
剧毒	$LC_{50} \leq 0.1$
高毒	$0.1 < LC_{50} \leq 1.0$
中毒	$1.0 < LC_{50} \leq 10$
低毒	$LC_{50} > 10$



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] FAO(1989).Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
  - [4] OECD (1992). Guidelines 203:Fish, acute toxicity test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals.
  - [5] USEPA (1985).Part II, Toxic substances control act test Guidelines, Final Rules, Federal register.
  - [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.
-