



中华人民共和国国家标准

GB/T 31270.9—2014

化学农药环境安全评价试验准则 第9部分：鸟类急性毒性试验

Test guidelines on environmental safety assessment for chemical
pesticides—Part 9: Avian 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 9 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：韩志华、宋伟华、单正军、周军英、赵学平、何伟志、张宝兰、刘峰、蔡道基。

化学农药环境安全评价试验准则

第9部分：鸟类急性毒性试验

1 范围

GB/T 31270 的本部分规定了鸟类急性经口毒性试验和急性饲喂毒性试验的材料、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鸟类急性经口毒性试验和急性饲喂毒性试验。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

半致死剂量 median lethal dose

在急性经口毒性试验中,引起 50% 供试生物死亡时的供试物剂量,用 LD_{50} 表示。

注:单位为 mg a. i./kg 体重。

2.2

半致死浓度 median lethal concentration

在急性饲喂毒性试验中,引起 50% 供试生物死亡时饲料中的供试物浓度,用 LC_{50} 表示。

注:单位为 mg a. i./kg 饲料。

2.3

供试物 test substance

试验中需要测试的物质。

2.4

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]

2.5

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]

2.6

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]

2.7

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]

3 试验概述

3.1 方法选择

鸟类急性毒性试验包括急性经口毒性试验方法和急性饲喂毒性试验方法,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 急性经口毒性

急性经口毒性试验是将不同剂量的供试物以经口灌注法一次性给药 1.0 mL/100 g 体重,连续 7 d 观察试验用鸟的中毒与死亡情况,并求出 7 d 的 LD_{50} 值及 95% 置信限。对于毒性较低的原药和不溶于水的颗粒制剂可采用胶囊灌喂法进行染毒。

3.3 急性饲喂毒性

急性饲喂毒性试验是使用喷雾器将不同浓度的药液喷在食物上,边喷边拌,直至搅拌均匀。用含有不同浓度供试物的饲料饲喂试验用鸟 5 d,从第 6 天开始,以不含供试物的饲料饲喂 3 d,每天记录鸟的中毒与死亡情况,并求出 8 d 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

根据试验目的,有一个或多个物种可供选择。供试物种可自行繁殖,也可购买标准化繁殖试材,所选试验用鸟应健康状况良好且没有明显的畸形,供试物种引入实验室后前 7 天的死亡率 < 5%,且生长状态符合该物种生长规律的视为健康状况良好。推荐的物种参见附录 A。试验用鸟应通过动物检疫,确保没有任何疾病。试验用鸟应来自同一个母本种群,且同一天孵化。

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鸟类毒性小的有机溶剂助溶,有机溶剂用量一般不得超过 0.1 mL(g)/L。

4.1.3 主要仪器设备

主要仪器设备如下:

- 试验用鸟笼;
- 电子天平;
- 移液器;
- 注射器等。

4.1.4 试验条件

各推荐物种及对应的相关测试条件,参见附录 A。

4.2 试验操作

4.2.1 急性经口毒性

4.2.1.1 预试验

按正式试验的条件,以较大的间距设置 4 个~5 个浓度组,求出供试物对试验用鸟的最低全致死浓度和最高全存活浓度。在此范围内设置正式试验的浓度。

4.2.1.2 正式试验

根据预试验确定的浓度范围按一定间距至少设置 5 个浓度组,每组 10 只鸟,雌雄各半,并设空白对照组,使用溶剂助溶的还需增设溶剂对照组。对照组和每一浓度组均不设重复,各浓度组间的浓度级差不得超过 2 倍。每隔 24 h 观察并记录试验用鸟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 LD_{50} 值及 95% 置信限。

4.2.1.3 限度试验

根据农药对鸟类的毒性划分标准,设置上限剂量 2 000 mg a. i. /kg 体重,即在供试物达 2 000 mg a. i. /kg 体重时仍未出现鸟死亡,则无需继续试验。此时,即可判定供试物对鸟类的经口毒性为低毒。

4.2.2 急性饲喂毒性

4.2.2.1 预试验

按正式试验的条件,以较大的间距设置 4 个~5 个浓度组,求出供试物对受试鸟的最低全致死浓度和最高全存活浓度,在此范围内设置正式试验的浓度。

4.2.2.2 正式试验

根据预试验确定的浓度范围按一定间距至少设置 5 个浓度组,每组 10 只鸟,雌雄各半,并设空白对照组,空白对照组喂饲正常饲料,使用溶剂助溶的还需增设溶剂对照组。对照组和每一浓度组均不设重复,各浓度组间的浓度几何级差不得超过 2 倍。每隔 24 h 观察并记录试验用鸟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。

4.2.2.3 限度试验

根据农药对鸟类的毒性划分标准,设置上限剂量 5 000 mg a. i./kg 饲料,即在供试物达 5 000 mg a.i./kg 饲料时仍未出现鸟死亡,则无需进行试验。此时,即可判定供试物对鸟类的饲喂毒性为低毒。

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的鸟类经口毒性和饲喂毒性的半致死剂量 LD_{50} 和半致死浓度 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

用寇氏法可求出鸟类经口毒性在 7 d 时的 LD_{50} 值及 95% 置信限,以及饲喂毒性在 8 d 时的 LC_{50} 值

及 95% 置信限。

$LD_{50}(LC_{50})$ 的计算见式(1):

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

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):

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

标准误的计算见式(3):

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

式中:

p ——1 个组的死亡率;

q —— $1 - p$;

n ——各浓度组鸟的数量。

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 LD_{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 LD_{50} 值。

4.4 质量控制

质量控制条件包括:

- 投喂药品期间,农药含量不能低于规定含量的 80%;
- 试验结束时,对照组死亡率不超过 10%;
- 试验环境条件和基本食物,应适应试验用鸟的生理和行为。

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、大小及驯养情况;
- 试验条件,包括:试验温度、光照条件等;
- 试验剂量或试验浓度,24 h、48 h、72 h 及 7 d 的 LD_{50} 或 24 h、48 h、72 h、96 h、120 h 及 8 d 的 LC_{50} 值和 95% 置信限,并给出所采用的计算方法;
- 对照组及处理组是否出现死亡及异常反应;
- 对鸟类的毒性等级划分参见附录 B。

附 录 A
(资料性附录)

鸟类推荐物种及推荐测试条件

鸟类推荐物种及推荐测试条件参见表 A.1。

表 A.1 鸟类推荐物种及推荐测试条件

推荐物种	推荐测试条件			
	温度/℃	相对湿度/%	鸟龄/d	空间/(cm ² /鸟)
野鸭 (<i>Anas platyrhynchos</i>) 鸟龄:0 d~7 d 8 d~14 d >14 d	 32~35 28~32 22~28	 60~85	 10~17	 600
北美鹌鹑 (<i>Colinus virginianus</i>) 鸟龄:0 d~7 d 8 d~14 d >14 d	 35~38 30~32 25~28	 50~75	 10~17	 300
鸽子 (<i>Columba livia</i>) 鸟龄:>35 d	 18~22	 50~75	 56~70	 2 500
日本鹌鹑 (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) 鸟龄:0 d~7 d 8 d~14 d >14 d	 35~38 30~32 25~28	 50~75	 10~17	 300

附录 B
(资料性附录)

农药对鸟类的毒性等级划分

按农药对鸟类急性经口半致死剂量 LD_{50} 和急性饲喂半致死浓度 LC_{50} ，将农药对鸟类的急性毒性分为四级，见表 B.1。

表 B.1 农药对鸟类的毒性等级划分

毒性等级	急性经口 LD_{50} /(mg a. i./kg 体重)	急性饲喂 LC_{50} /(mg a. i./kg 饲料)
剧毒	$LD_{50} \leq 10$	$LC_{50} \leq 50$
高毒	$10 < LD_{50} \leq 50$	$50 < LC_{50} \leq 500$
中毒	$50 < LD_{50} \leq 500$	$500 < LC_{50} \leq 1\ 000$
低毒	$LD_{50} > 500$	$LC_{50} > 1\ 000$

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] US EPA(2012). Avian acute oral toxicity test (OCSPP 850.2100). Ecological effects test guidelines.
- [4] US EPA(2012). Avian dietary toxicity test (OCSPP 850.2200). Ecological effects test guidelines.
- [5] OECD(2010). Guideline 223: Avian acute oral toxicity test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals.
- [6] OECD(1984). Guideline 205: Avian dietary toxicity test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals.
- [7] 蔡道基. 农药环境毒理学研究. 北京: 中国环境科学出版社, 1999.
-