

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx—xxxx

化学农药 鸟类繁殖试验准则

Chemical pesticide—Guideline for avian reproduction test

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

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

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准技术内容等效采用经济合作与发展组织（OECD/OCDE）化学品测试导则No.206《鸟类繁殖试验》。

请注意本标准的某些内容可能涉及专利。本标准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。

本标准起草单位：农业农村部农药检定所

本标准主要起草人：

化学农药 鸟类繁殖试验准则

1 范围

本标准规定了鸟类繁殖试验的试验原理、材料与条件、方法、质量控制、试验报告等基本要求。

本标准适用于为化学农药登记而进行的鸟类繁殖试验，其他类型的农药可参照使用。

本标准不适用于易挥发和难溶解的化学农药。

2 规范性引用文件

下列文件对文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 31270.9 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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

环境驯养 acclimation

是一种受试鸟在生理或行为上对受试环境条件（如鸟舍与食物）的适应过程。

3.2

光照期 photoperiod

是指24h内的光照/黑暗的周期替换。通常表达为17h光照/7h黑暗或者17hL/7hD。

3.3

入孵蛋 eggs set

指用于孵化的蛋，即产蛋总量减去破裂蛋和用于测量蛋壳厚度的蛋。

3.4

胚胎发育率 viable embryos

受精后胚胎发育已开始的入孵蛋。以占受精入孵蛋的百分数表示

注：单位为百分数（%）。

3.5

蛋壳厚度 eggshell thickness

指蛋壳和蛋膜的厚度和。测量时在最大直径处打开，冲洗内含物，然后使蛋壳和蛋膜在

室温下自然干燥48h，沿直径最大横断面取若干点来测量。结果用测定值的平均值表示。

注：单位为毫米（mm）。

3.6

孵化率 hatchability

指孵化出壳禽数占入孵蛋或入孵受精蛋的百分率。

注：单位为百分数（%）。

3.7

14日龄的幼鸟存活率 14-day-old survivors

孵化2周后幼鸟的存活数。

注：单位为存活百分数或存活数/（笼·每季）（或一个测试）。

3.8

最低可观察效应浓度 lowest observed effect concentration

在一定暴露期内，与对照组相比，对受试鸟产生显著影响的最低供试物浓度。用LOEC表示。

注：单位为毫克有效成分每升mg a.i/L

3.9

无可观察效应剂量 no- observed effect concentration

在一定暴露期内，与对照组相比，对受试鸟无显著影响的最高供试物浓度。用NOEC表示。

注：单位为毫克有效成分每升mg a.i/L

4 试验概述

将供试物按等比配制一系列不同浓度的试验药液，在不少于20周时间内，用含不同浓度供试物的食物投喂供试鸟。通过光照期的调控，诱导鸟下蛋。收集10周内产的蛋，置于人工孵化器，孵出幼鸟后，饲养14d。测定成鸟的死亡率、产蛋量、破裂蛋、蛋壳厚度、幼鸟存活率、孵化率以及对幼鸟的影响等，通过统计分析供试物处理组和空白对照组繁殖率的差异，确定LOEC和NOEC。

本试验包括三个阶段：

暴露阶段：供试组成年种鸟投食含供试物的食物，一般持续6周～8周。

繁殖阶段：光照从初始阶段的每天7h或8h，增加到16h～17h，使雌鸟进入产蛋期。这个阶段直到产蛋终止结束，一般持续2周～4周。

孵化阶段：以鸟蛋的入孵开始，一般持续8周，最好10周。如果观察到繁殖数量减少，还应增加一个恢复期，此阶段一般持续3周。

5 试验方法

5.1 材料和条件

5.1.1 供试生物

本试验可以使用一种或两种的鸟类，其选择应根据所进行的试验的要求而定。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，且生长状态符合物种生长规律。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。处理组和对照组的鸟应来自于已知亲代的同一种群。

不能选用有下列情况的鸟：对受试物有阻抗作用的；预试验（无论是对照组和处理组）中使用过的；以前测试中处理鸟的后代，但可以采用对照组鸟的后代。在驯养期间，如果任一性别的鸟的死亡率超过3%，或受试鸟变得衰弱，则不采用该群鸟。

5.1.2 供试物

供试物应使用农药原药或制剂。难溶于水的农药，可用少量对受试鸟类毒性小的有机溶剂助剂，用量不应超过0.1mL (g) /L。

供试物信息至少应包括：

- 化学结构式；
- 纯度；
- 水溶性；
- 水中、光中和食物中的稳定性；
- pK_a 值；
- K_{ow} ；
- 蒸汽压；
- 生物降解性；
- 定量分析方法；
- 溶解性。

5.1.3 试验食物

5.1.3.1 基本食物

基本食物是未经处理的，不加入任何稀释剂、助溶剂、供试物等其他化学物质，适合并满足受试鸟营养需求的食物。采用标准的商业种鸟饲料，或与其营养水平相当的饲料。种鸟

的食物或饮水中不应含有抗生素或其他药物。应尽可能选择未经污染的食物，定期分析食物中杀虫剂、重金属或其他污染物的含量，以食物的营养成分的分析（定量组成）应在测试报告中给出。

5.1.3.2 供试食物

供试食物是由一定量的供试物和成年种鸟的基本食物均匀混合而成的，应选用对鸟类低毒的载体以确保混合均匀，载体的量不应超过食物重量的2%。如果使用了载体，应在对照组的食物中加入同样的载体。如果供试物不溶于水，则可选用挥发性的试剂作为助溶剂（如丙酮、氯甲烷等），但在投食供试食物之前必须保证这些助溶剂全部挥发。可以采用水、玉米油、丙二醇、阿拉伯树脂，以及其他已有充分证据表明不会干扰供试物毒性的载体。供试食物应每周新配或用储备液配制一次。对易挥发或不稳定的供试物，应随时配制供试食物以保证食物中供试物的浓度不低于设定含量的80%。

测试中出生的幼鸟应投喂基本食物，或与其营养水平相当的饲料。幼鸟饲料中不应加入供试物，不应使用任何抗生素或其他药物。如果需要可在幼鸟的饮水中加入杆菌肽或其类似物。

5.1.4 主要仪器设备

主要仪器设备如下：

- 鸟类饲养装置；
- 幼鸟育雏器；
- 孵化器；
- 鸟蛋储存装置；
- 电子天平；
- 移液器等。

5.1.5 试验条件

试验应在通风良好，环境清洁的条件下进行。驯养期间，除基本食物不含供试物外，其他环境条件应与试验条件相同。应避免使用其他的药剂和药品。如果一旦使用，则应在结果报告中注明。应防止干扰，以避免鸟类行为的改变。

供试生物驯化及试验条件参见附录A。

5.2 试验步骤

5.2.1 浓度组设置

以GB/T 31270.9鸟类急性饲喂毒性试验结果为依据，设置至少3个浓度组，并设空白对

照。供试物使用溶剂助剂时，还需设溶剂对照。最高浓度为 LC_{10} 的50%，浓度梯度设置按照最高浓度的几何级数递减设置（如1/6和1/36）。

5.2.2 试验分组

以1对，或1雄2雌（鹌鹑）或1雄3雌（绿头鸭）为1组，置于鸟舍（笼）中饲养，也可采用其他合理分组安排。处理组和对照组应在相同的条件下饲养。对于以1对鸟作为供试单位的，每个处理组和对照组应至少重复12次，对于以1组为供试单位的，每个处理组和对照组，绿头鸭至少为8笼，鹌鹑至少为12笼。

5.2.3 正式试验

5.2.3.1 暴露阶段

试验开始后，供试鸟应在短日照条件下（每天7h~8h光照）连续投喂含供试物饲料8周。在此期间的黑暗期，应不受任何光的干扰和中断，该阶段持续8周。

5.2.3.2 繁殖阶段

试验开始8周后，调整光照周期，增加光照时间至每天16h~18h，以便诱使鸟进入繁殖状态，持续2周~4周，供试鸟开始产蛋，每天收集并储存鸟蛋，并将鸟笼编号用铅笔标记在蛋的钝端。如果试验是在室外自然条件下进行的，则试验的时间应与该鸟种在当地的自然繁殖季节相一致。且在正常产蛋之前，供试鸟应至少投喂含供试物的食物10周。

5.2.3.3 孵化阶段

产蛋后，试验应继续进行8周~10周。每周或每两周进行孵化，在孵化之前，取出储存的鸟蛋，置于照明灯光下检查蛋壳有无破裂，如有破裂则不能进行孵化，孵化条件参见附录B。孵化6d~11d之后应对所孵化的鸟蛋再次进行检查，观察其是否存活。

孵出的雏鸟应按照原先标记的笼号分别饲养，或者对每一个体标记后群养。雏鸟应投喂适当的饲料（不含供试物）至14d。适合幼鸟的环境条件见附录B。每天光照14h，黎明和黄昏时有15min~30min的过渡期。

5.2.4 限度试验

设置1000mg/kg为上限浓度，进行限度试验。当限度试验证明供试物对鸟类繁殖影响的NOEC比限度试验浓度高，可判定供试物对鸟类繁殖无显著影响，则无需进行浓度试验。限度试验中，对照组和处理组重复数参照5.2.2设置。

5.3 浓度分析

应监测供试物浓度，以保持其在试验体系中的稳定性，食物中的供试物浓度应维持在设计浓度的80%以上。

在试验开始的第1周内，供试物加入饲料后，应立即测定其最高浓度和最低浓度，4h内在对新混合的饲料进行1次分析，直至饲料中供试物的浓度稳定为止。若全部测定结果表明，饲料中供试物的浓度在设计浓度的80%以上，则无需再进行分析。

若测定结果表明，饲料中供试物的浓度低于设计浓度的80%，应调整配制的起始浓度或者增加更换饲料的频率，以保证调整后的浓度已达到设计浓度的80%以上。

无论饲料中供试物的稳定性如何，应至少每周更换1次饲料。若供试物的稳定性只能靠每天更换饲料来维持，则该试验无效。

5.4 观测与记录

试验过程中，观察并记录各处理组及对照组下列情况：

- 每天成鸟的死亡率和中毒症状；
- 成鸟的体重：在试验暴露期开始，产蛋开始前以及试验结束。
- 14日龄幼鸟体重。
- 成鸟的饲料消耗量：计算试验期间每间隔一周或两周的平均食物消耗量。
- 幼鸟的饲料消耗量：在孵化后的第1周和第2周进行。
- 所有死亡成鸟的病理检查。
- 幼鸟的成熟胚胎数、破壳雏鸟数、孵化率、孵化正常的胚胎数。
- 每只雌鸟所产14日龄幼鸟的存活率。
- 破壳蛋：按照标记，应从每个鸟舍中取出2只蛋以测定蛋壳的厚度（如第3只蛋和第10只蛋，或者第5d、第20d、第35d所收集的所有的蛋），破裂的蛋不能用于测定蛋壳厚度，但其数量应计算在内。

6 数据处理与分析

可采用通常可接受的统计方法对试验中各处理组和对照组进行比较，如方差分析。在可能的情况下，应统计产蛋率、成鸟体重和14日龄幼鸟的体重。繁殖中的正常参数参见附录C。

7 质量控制

试验期间质量控制包括：

- 试验结束时，对照组鸟的死亡率不超过10%。
- 对照组每笼孵出的14d龄幼鸟的平均数，分别不少于：绿头鸭14只，北美鹌鹑12只，日本鹌鹑24只。
- 对照组蛋壳的平均厚度分别不小于：绿头鸭0.34mm，北美鹌鹑0.19mm，日本鹌鹑0.19mm。

——如果在使用所推荐的浓度范围未观察到受试物对繁殖的影响，试验报告可报告NOEC大于最高试验浓度。

——投喂含供试品的食物期间，应保证食物中的供试品的浓度维持恒定，供试品的含量不能低于配制浓度的80%。

8 试验报告

试验报告应至少包括下列内容：

a) 供试物的信息，包括：

——供试农药的物理状态及相关理化特性等包括（通用名、化学名称、结构式、水溶解度）等；

——化学识别数据（如CAS号）、纯度（杂质）。

b) 供试生物：学名及品系、来源、试验开始时的鸟龄（以周计或月计）、所有的预处理等。

c) 试验条件，包括：

——驯养条件：鸟笼的材料、大小和类型，鸟舍的温度、湿度，光照周期和光照强度，通风条件，以及试验过程中的变化；

——基本食物：来源、组成、制造商提供的营养成分分析（蛋白质、糖、脂肪、钙、磷等），以及所使用的添加剂和载体等；

——供试食物：制备方法，使用浓度组数量，每个浓度组的配制浓度和实测浓度，测定方法，混合和更换食物的频率，所使用的载体，贮存条件，投喂方法等；

——在驯养中，将供试生物随机分配到各处理浓度和对照组已经对于难于相处的鸟进行再次分配的程序和方法；

——每一试验鸟笼（舍）中鸟的数量，每一处理组和对照组的平行数；

——鸟和鸟蛋的标记方法；

——鸟蛋贮存、孵化出雏的条件，包括温度、湿度和翻转频率等；

——如果使用有毒物质作为参比物，其名称和浓度配制方法。

4) 试验结果，包括

——供试生物中毒症状、频率、持续时间，影响程度，受影响的个体数量等；

——成鸟和幼鸟的食物消费量和体重；

——病理检查描述；

——鸟组织和蛋中供试物的残留分析；

- 产蛋量、入孵蛋、胚胎发育率、孵化率（包括正常孵化）、蛋壳厚度表（以各浓度每周每鸟舍为单位）、14日龄幼鸟的存活率；
- 统计分析方法和结果分析；
- NOEC值及其他具显著统计学意义的效应值；
- 试验中的异常或其他可能影响试验结果的相关信息。

附录 A
(规范性附录)
鸟类推荐物种及试验环境条件

A. 1 鸟类推荐物种和成鸟试验条件参见表A. 1

表A. 1 鸟类推荐物种和成鸟试验条件

推荐物种	推荐测试条件				
	温度 (℃)	相对湿度 (%)	试验开始时 鸟龄	试验中鸟龄的 变异范围/周	每对鸟的最小 笼底面积 ^a /m ²
<i>Anas platyrhynchos</i> (绿头鸭)	22±5	50~70	9月-12月	±2	1
<i>Colinus virginianus</i> (北美鹌鹑)	22±5	50~70	20周-24周	±1	0.25
<i>Coturnix coturnix japonica</i> (日本鹌鹑)	22±5	50~70	20周-24周 ^b	±1/2	0.15

a 如果使用较大的鸟群，则应按比例增加鸟笼的底面积。

b 建议在使用之前保证鹌鹑是种鸟，以减少变异。

附录 B
(规范性附录)
入孵蛋和幼鸟试验条件

孵化持续的时间应达到这三种鸟类孵化的条件，绿头鸭25d~27d，白喉鹑为23d~24d，日本鹌鹑为17d~18d。入孵蛋和幼鸟的推荐环境条件见表B. 1

表B. 1 推荐的入孵蛋和幼鸟环境条件

鸟种	试验阶段	温度 (℃)	相对湿度 (%)	是否翻蛋
绿头鸭	贮存	14~16	60~85	可选择
	孵化	37.5	60~75	是
	出雏	37.5	75~85	否
	幼鸟, 第 1 周	32~35	60~85	——
	幼鸟, 第 2 周	28~32	60~85	——
北美鹌鹑	贮存	15~16	55~75	可选择
	孵化	37.5	50~65	是
	出雏	37.5	70~75	否
	幼鸟, 第 1 周	35~38	50~75	——
	幼鸟, 第 2 周	30~32	50~75	——
日本鹌鹑	贮存	15~16	55~75	可选择
	孵化	37.8	50~70	是
	出雏	37.2	70~75	否
	幼鸟, 第 1 周	35~38	50~75	——
	幼鸟, 第 2 周	30~32	50~75	——

表B. 1中所列出的温度和湿度是对强制通风的孵化器和育雏器而言，对无对流，靠重力换气的孵化器和育雏器，温度应高1.5℃~2℃，相对湿度增加10%左右。在海拔较高的地方也应该增加相对湿度。应在距笼底2.5cm~4cm处测量孵化器中的温度。

附录 C
(资料性附录)
繁殖过程中的正常参数

繁殖过程中的正常参数见表 C.1。

表 C.1 繁殖过程中的正常参数 a

参数	绿头鸭	北美鹌鹑	日本鹌鹑
产蛋数（每笼（舍）中 10 周），只	28~38	40~65	40~65
破裂蛋的百分数，%	0.6~6	——	——
胚胎成活率（入孵蛋胚胎的发育百分率），%	85~98	80~92	80~92
孵化率，%	50~90	65~80	65~80
14d 龄幼鸟的存活率，%	94~99	93	93
每笼孵出雏鸟到 14d 龄时的存货数，只	16~30	28~38	28~38
蛋壳厚度，mm	0.35~0.39	0.19~0.23	0.19~0.23

a 这些参数为一般值。但如果对照组与这些参数不符合或相差很大，则应检查试验程序和条件，已发现潜在的问题。

参 考 文 献

- [1] OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Test No. 206, Avian Reproduction Test, Adopted 4th April, 1984.
