

NY

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx—xxxx

## 微生物农药环境评估指南

### 第2部分：鱼类

Guidelines on environmental risk assessment for microbial pesticides

—Part 2: Fish

(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 xxxx 《微生物农药环境风险评估指南》，分为 6 部分：

- 第 1 部分：总则；
- 第 2 部分：鱼类；
- 第 3 部分：溞类；
- 第 4 部分：鸟类；
- 第 5 部分：蜜蜂；
- 第 6 部分：家蚕。

本部分是 NY/T xxxx 的第 2 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。

本部分由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本部分起草单位：

本部分主要起草人：

# 微生物农药登记环境风险评估指南

## 第 2 部分：鱼类

### 1 范围

本部分规定了微生物农药对水生生态系统鱼类影响的风险评估原则、方法和程序。

本部分适用于为微生物农药登记而进行的水生生态系统鱼类影响的风险评估。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本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。

NY/T 2882.2 农药登记环境风险评估指南第 2 部分：水生生态系统

NY/T 3152.4 微生物农药环境风险评价试验准则第 4 部分：鱼类毒性试验

NY/T 3278.2 微生物农药环境增殖试验准则第 2 部分：水

NY/T ××××× 微生物农药环境风险评估指南第 1 部分：总则

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**水生生态系统 aquatic ecosystem**

水生生物群落与水环境构成的生态系统。[同 NY/T 2882.2]

#### 3.2

**物种敏感性分布 species sensitivity distribution**

使用统计学或经验分布函数描述物种对农药敏感性差异的方法，用 SSD 表示。[同 NY/T 2882.2]

#### 3.3

**无可见作用浓度 no observed effect concentration**

与对照相比，供试物对受试生物在统计学上无显著负面影响的最高浓度，用 NOEC 表示。单位为微生物菌体数每升（CFU/L 或个/L）。

#### 3.4

**无可见生态不良效应浓度 no observed ecologically adverse effect concentration**

等于或低于该浓度不会在某项高级试验研究（如中宇宙）中观测到持久不良效应，用 *NOEAEC* 表示。单位为微生物菌体数每升（CFU/L 或个/L）。

### 3.5

#### 中宇宙 mesocosm

人工模拟的多物种试验系统，用来评估农药的生态毒性影响。该系统一般为陆生系统或水生生态系统，可包括植物、动物以及微生物。[同 NY/T 2882.2]

### 3.6

#### 5%物种危害浓度 hazardous concentration for 5% of the species

通过物种敏感性分布得出的对 5%物种存在危害的浓度，用  $HC_5$  表示。单位为微生物菌体数量每升（CFU/L 或个/L）。

## 4 基本原则

4.1 保护目标是水生生态系统中鱼类资源的安全性和可持续性，即微生物农药的使用不应在水生生态系统中的鱼类存在短期和长期影响。本部分要保护的生态系统是指农田之外的，常年有鱼类生存的生态系统。

4.2 微生物农药对水生生态系统鱼类的风险评估采用阶段递进评估方法。

## 5 评估方法和程序

### 5.1 概述

微生物农药对水生生态系统鱼类环境风险评估流程遵照图 A.1。

### 5.2 问题阐述

#### 5.2.1 风险估计

根据微生物农药生物学特征、防治对象等确定对鱼类危害的可能性，当根据现有信息不能排除鱼类受到微生物农药的暴露危害时，应进行风险评估。

用于多种作物或多种防治对象的微生物农药，当针对每种作物或防治对象的施药方法、施药量或频率、施药时间等不同时，可对其使用方法分组评估：

- a) 分组时应考虑作物、施药剂量、施药次数和施药时间等因素；
- b) 根据分组确定对鱼类风险的最高情况，并对该分组开展风险评估；
- c) 当风险最高的分组对鱼类的风险可接受时，认为该微生物农药对鱼类风险可接受；

- d) 当风险最高的分组对鱼类的风险不可接受时，还应对其他分组开展风险评估，从而明确何种条件下该微生物农药对鱼类的风险可接受。

## 5.2.2 数据收集

参照 NY/T\*\*\*\*总则中“表 1 微生物农药环境风险评估危害识别信息表”，针对本部分的保护目标收集但不仅限于微生物农药生物学、生态毒理、环境繁衍、制剂组成及使用方法等方面的信息，并对信息进行初步分析，以确保有充足的信息进行危害特征和环境暴露分析。

## 5.2.3 计划简述

根据已获得的相关信息和数据拟定风险评估方案，简要说明风险评估的内容、方法和步骤。

## 5.3 第一阶段评估

### 5.3.1 最大危害暴露量毒性评估

采用 NY/T 3152.4 的标准方法，测试微生物农药在最大危害暴露浓度下对鱼类的危害情况。若待评估物质为母药，根据其致毒机理选择合适的暴露途径；若待评估物质为制剂，可根据母药的资料选择合适的暴露途径。若任何一种暴露途径的最大危害暴露量试验结果显示微生物农药对鱼类有显著不良影响，则要进行剂量—效应分析和致（死）病性验证试验。

## 5.4 第二阶段评估

### 5.4.1 确定剂量—效应分析毒性终点

采用 NY/T 3152.4 规定的方法，测试微生物农药对鱼类的 LC<sub>50</sub> 或 IC<sub>50</sub> 等毒性终点值。在初级评估中，选择毒性终点应遵循以下原则：

a) 当某一制剂的毒性相对母药或其他剂型显著（100 倍）增加或降低毒性时，使用该制剂的毒性终点值评估该制剂对鱼类的风险。

b) 当因剂型等限制未能得出确切制剂毒性终点时，但有微生物母药或菌株的毒性终点值，可使用母药或菌株的毒性终点值作为效应评估值。

c) 当同一物种具有多个毒性终点时选择最小数值作为效应评估终点值；当有多个物种的数据但不足以进行 SSD 分析时，选择所有物种毒性终点的最小值。

### 5.4.2 确定致死（病）性效应

a) 致死（病）性试验设计应遵循柯赫氏法则。

b) 某些专性寄生微生物如病毒等，由于不能在人工培养基上培养，可以采用其他实验方法证明，或充分说明其寄主专一性。

#### 5.4.3 环境暴露分析

采用 NY/T 3278.2 等规定方法，测试微生物农药在人工配制水体、标准试验条件下的环境增殖能力，根据生长—死亡曲线预测微生物在水体中的最大浓度，并将此作为环境暴露浓度用作风险评估。

#### 5.4.4 初级风险的定量和定性表征

——当微生物毒性表现为阈值效应，风险表征可采用风险商值（ $RQ$ ）进行定量描述：

$RQ \leq 1$ ，即环境暴露浓度低于或等于危害效应终点，则风险可接受；

$RQ > 1$ ，即环境暴露浓度高于危害效应终点，则风险不可接受。

——当微生物毒性表现为单击、非阈值效应，风险标准可采用定性描述：

当微生物农药在水中无生长能力，则风险可接受；

当微生物农药在水中有生长能力，则风险不可接受。

### 5.5 第三阶段评估

在实验室条件下，模拟微生物农药使用和环境参数，采用鱼类一代繁殖延长试验等，测试受试生物的  $NOEC$ ，评估微生物农药对鱼类的长期影响和垂直传播风险。

### 5.6 第四阶段评估

在中宇宙或小规模田间试验条件下，构建微生物农药使用环境场景，包括水生生态系统中的鱼类及其食物链下游的水生无脊椎动物和初级生产者（根据微生物农药的作用特征选择但不作为评估指标）、环境条件和气候条件等，测试其中鱼类的  $NOEC/NOEAEC$ ，数据充足时可使用多个物种的毒性终点进行  $SSD$  分析，求出  $HC_5$ ，评估微生物农药对鱼类的危害影响的水平和垂直传播风险。

### 5.7 风险降低措施

当风险评估结果表明微生物农药对鱼类的风险不可接受时，应采取适当的风险降低措施以使风险可接受，且应在产品标签上注明相应的风险降低措施。通常所采取的风险降低措

施不应显著降低产品的使用效果，且应具有可行性。

附录 A  
(规范性附录)  
微生物农药对鱼类环境风险评估流程图

微生物农药对鱼类的环境风险评估流程见图 A.1。

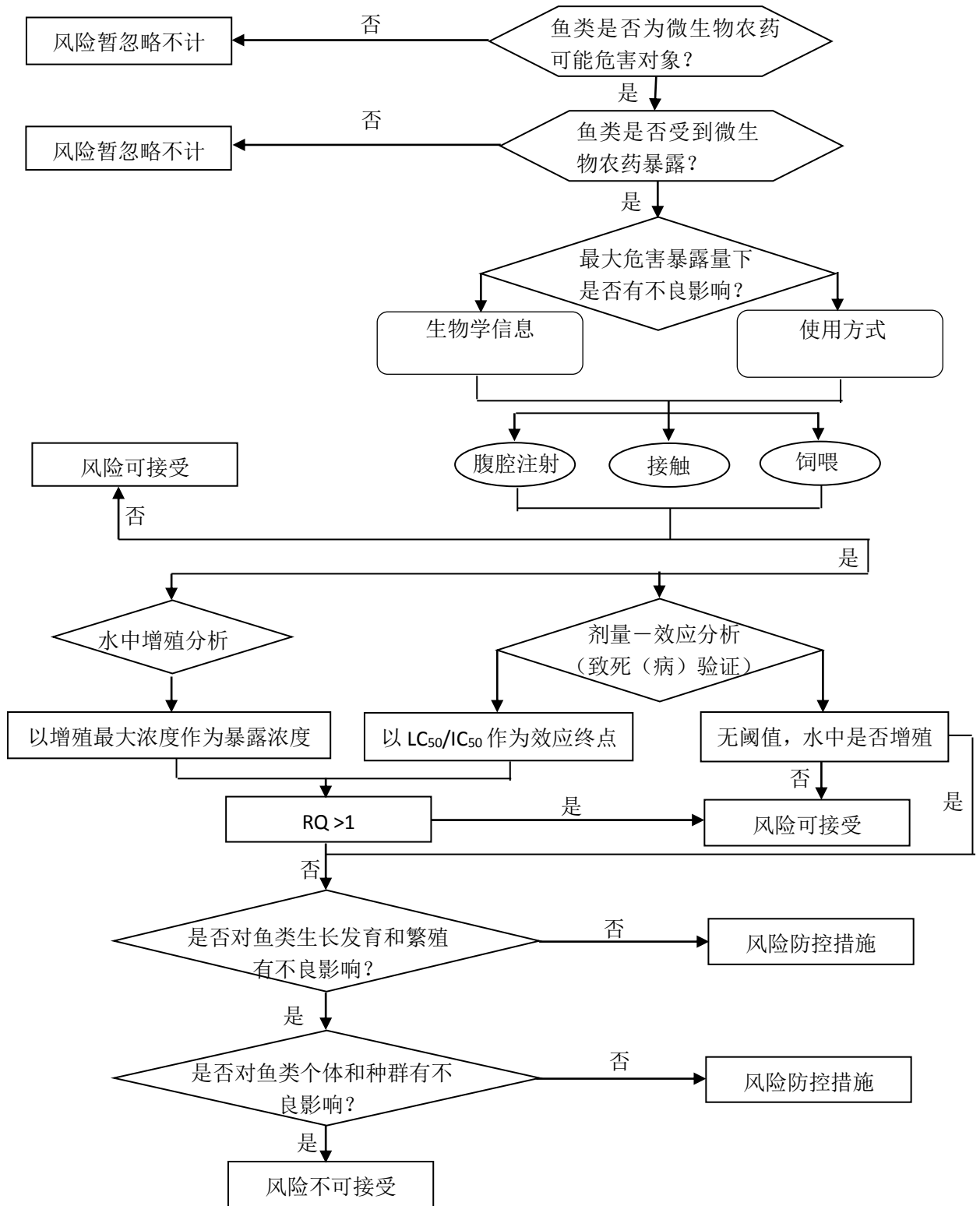


图 A.1 微生物农药对鱼类环境风险评估流程图



**附录 B**  
**(资料性附录)**  
**鱼类腹腔注射的方法**

**B.1 试剂**

生理盐水 (0.85-1.0%氯化钠水溶液)

**B.2 仪器设备**

5-250 $\mu$ L 微量注射器

10 $\times$ 目镜的体式显微镜

**B.3 注射前准备**

**B.3.1 试验鱼的准备**

注射前将鱼至少禁食 24h。

称量鱼的体重：在一个 500 毫升的烧杯里装满 1/3 的养殖用水，称量烧杯皮重。用网收集鱼，擦干体表的水分，把鱼放在烧杯里，称量鱼的体重，然后把鱼转移到一个干净的鱼缸里并进行标记。

根据鱼的体重计算每条鱼的注射量，注射量为 0.01mL/g 体重。

**B.3.2 仪器准备**

准备注射操作台，可选择一块软海绵（高度大约 20mm），在其表面上做一个适合鱼体大小的切口用来盛放被注射的鱼，将海绵放入一个大小合适的容器中，容器需要足够大且浅，以容纳水，帮助保持海绵的湿润和温度。

小型鱼种，例如斑马鱼等，需要再显微镜下进行注射，则需预先调置好显微镜的焦距，使其聚焦于海绵上。

注射器灭菌处理，注射前需排空注射器中的空气。

**B.3.3 菌悬液的准备**

离心收集培养基中的菌体，并用生理盐水洗涤 1 次，制备成菌悬液。

**B.4 麻醉**

为了不使鱼在注射过程中因感到疼痛出现挣扎、摆尾的情况，在注射前需要对鱼进行麻醉。

**B.4.1 低温麻醉**

除冷水鱼（虹鳟）外，其它温水鱼可用低温麻醉的方法。首先用鱼的养殖水制造碎冰，将碎冰加入盛有养殖水的容器中，使水温降到 17℃，但不能低于 17℃。将鱼转入冰水混合物中，再慢慢地向容器中加入碎冰，将温度降到 12℃（较大的鱼可能需要更低的温度）。随着温度下降，鱼鳃的运动减慢，呼吸会停止，当鱼对处理没有反应时，可进行注射。在引入下一条鱼之前，使用温水将麻醉水温恢复到 17℃。

#### B.4.1 麻醉剂麻醉

可使用 MS-222 和苯唑卡因等麻醉剂对鱼进行麻醉。麻醉剂量与鱼的种类、大小、密度以及水温和水的硬度有关，一般剂量在 25-100mg/L 之间。使用时可先用少量的鱼测试麻醉剂量和麻醉时间，麻醉剂诱导麻醉的时间以不超过 3 分钟为宜，恢复时间应控制在 10 分钟以内，最好不要超过 5 分钟。

#### B.5 注射

试验人员在操作过程中需将手指放在足够的冷水中进行降温，避免操作过程中造成鱼体温度升高，使鱼从麻醉中醒过来。

用冰冷的手指把鱼轻轻地移到海绵槽里，鱼的腹部朝上。离心收集培养基中的菌体，并用生理盐水洗涤 1 次，制备成菌悬液。用微量注射器从鱼的腹鳍处注射剂量为最大危害暴露量的菌悬液，对照组试验鱼注射相同量的生理盐水。

注射完毕后，立即将鱼放回温水(温度参考 NY/T 3152.4 附录 A 中不同受试鱼种的适宜水温)中，每次注射前更换新的针头。

## 参考文献

- [1] US. Environmental Protection Agency. Microbial Pesticide Test Guidelines OPPTS 885.4000 Background for Nontarget Organism Testing of Microbial Pest Control Agents [R]. America, 1996-02.
- [2] US. Environmental Protection Agency. Microbial Pesticide Test Guidelines OPPTS 885.4200 Freshwater Fish Testing, Tier I [R]. America, 1996-02.
- [3] US. Environmental Protection Agency. Microbial Pesticide Test Guidelines OPPTS 885.4650 Fish Life Cycle Studies, Tier III [R]. America, 1996-02.
- [4] US. Environmental Protection Agency. Microbial Pesticide Test Guidelines OPPTS 885.4750 Aquatic Ecosystem Test [R]. America, 1996-02.
- [5] 卜元卿, 刘常宏, 单正军. 微生物农药环境安全性评价技术研究. 2015. 科学出版社.